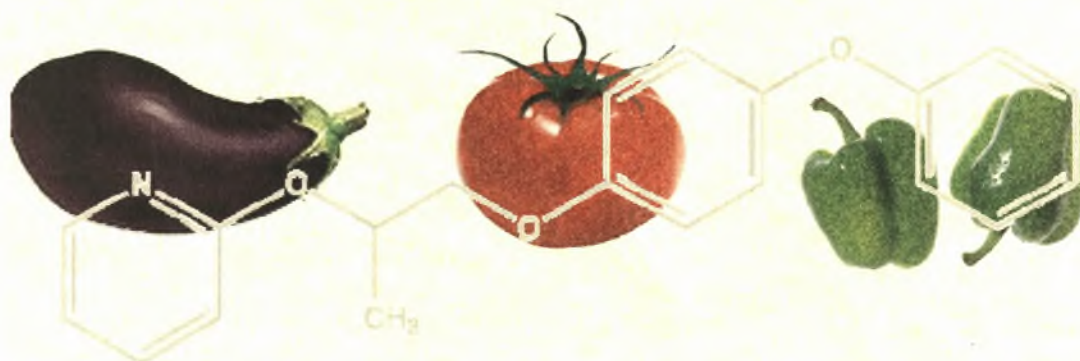


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ, ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Ανάπτυξη μεθόδου προσδιορισμού υπολειμμάτων του εντομοκτόνου pyriproxyfen σε λαχανικά. Παρακολούθηση της υποβάθμισης του pyriproxyfen σε λαχανικά σε πειράματα αγρού»

Παπαδή-Ψύλλου Ασημίνα

ΒΟΛΟΣ, ΑΠΡΙΛΙΟΣ 2007



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ & ΚΕΝΤΡΟ ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 5716/1
Ημερ. Εισ.: 23-08-2007
Δωρεά: Συγγραφέα
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ – ΦΠΑΠ
2007
ΠΑΠ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ, ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ
ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Ανάπτυξη μεθόδου προσδιορισμού υπολειμμάτων του εντομοκτόνου pyriproxyfen σε λαχανικά. Παρακολούθηση της υποβάθμισης του pyriproxyfen σε λαχανικά σε πειράματα αγρού»

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Τσιρόπουλος Νικόλαος	Παπαδόπουλος Νικόλαος	Χα Αβραάμ
Αναπληρωτής Καθηγητής	Επίκουρος Καθηγητής	Επίκουρος Καθηγητής
(Επιβλέπων)	(Μέλος)	(Μέλος)

Παπαδή-Ψύλλου Ασημίνα

ΒΟΛΟΣ, ΑΠΡΙΛΙΟΣ 2007

*Η παρούσα πτυχιακή εργασία αφιερώνεται ...
Στους γονείς μου και στον αδερφό μου,
που είναι πάντα δίπλα μου και με στηρίζουν σε ό, τι κάνω!*

*Στη μνήμη του παππού και της γιαγιάς μου,
που δεν πρόλαβαν να χαρούν την εισαγωγή μου στο Πανεπιστήμιο.
Κάτι που επιθυμούσαν πολύ...*

*Στους/στις φίλους/ες – συμφοιτητές/τριές μου
και στα φοιτητικά χρόνια που περάσαμε όλοι μαζί
στην όμορφη πόλη του Βόλου!*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Μετά την ολοκλήρωση της παρούσας πτυχιακής διατριβής αισθάνομαι την υποχρέωση να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα Καθηγητή μου κύριο Τσιρόπουλο Νικόλαο, Αναπληρωτή Καθηγητή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε κατά τη διεξαγωγή του πειράματος και των μετρήσεων, για το χρόνο που αφιέρωσε για τη διόρθωση του γραπτού κειμένου, καθώς επίσης και για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο θέμα. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους κυρίους Παπαδόπουλο Νικόλαο και Χα Αβραάμ, Επίκουρους Καθηγητές του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για τις χρήσιμες υποδείξεις και για το χρόνο που αφιέρωσαν για την διόρθωση της διατριβής μου, καθώς και τους κυρίους Λύκα Δημήτριο και Ράπτη Βασίλειο, Γεωπόνους Υποψήφιους Διδάκτορες, για την τεχνική υποστήριξη που μου προσέφεραν καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Τις ευχαριστίες μου επίσης θα ήθελα να εκφράσω προς τις κυρίες Καλαμαράκη Α., Γεωπόνο Ερευνήτρια Β του Εργαστηρίου Βιολογίας, Απλαδά – Σαρλή Π., Γεωπόνο Ερευνήτρια Β, και Μπέμπελου Ε., Γεωπόνο, του Εργαστηρίου Υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων, του Τμήματος Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων και Φυτοφαρμακευτικής, του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, για τις πληροφορίες που μου παρείχαν ύστερα από προσωπική επικοινωνία μαζί τους.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου για την πολύτιμη υποστήριξη, οικονομική, ψυχική και ηθική, που μου προσέφεραν όλα τα χρόνια των σπουδών μου και όχι μόνο.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	7
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	9
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	10
1. ΟΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΤΩΝ ΛΑΧΑΝΙΚΩΝ.....	11
1.1 Η καλλιέργεια της τομάτας	11
1.2 Η καλλιέργεια της πιπεριάς	13
1.3 Η καλλιέργεια της μελιτζάνας	14
1.4 <i>Trialleurodes vaporariorum</i> (Homoptera: Aleurodidae) ο εχθρός των κηπευτικών.....	16
2. ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ.....	18
2.1 Γενικά	18
2.2 Ουσίες ρυθμιστικές της ανάπτυξης των εντόμων – μιμητικές ορμονών	19
2.2.1 pyriproxifen.....	20
2.2.2 Πειράματα μελέτης του pyriproxifen	21
2.3 Αναστολείς βιοσύνθεσης εργοστερόλης	23
2.3.1 fenhexamid.....	25
3. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΥΣ	27
3.1 Γενικά	27
3.2 Η τύχη των υπολειμμάτων στις υπαίθριες καλλιέργειες	28
3.3 Προσδιορισμός των υπολειμμάτων	30
3.3.1 Δειγματοληψία	30
3.3.2 Επεξεργασία δειγμάτων και αποθήκευση.....	31
3.3.3 Επιλογή αναλυτικής μεθόδου	32
3.4 Αναλυτική μεθοδολογία	32
3.5 Ενόργανες τεχνικές προσδιορισμού των υπολειμμάτων	37
3.5.1 Αέρια χρωματογραφία	37
3.5.2 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης.....	38
3.5.3 Φασματογραφία μάζας	40
3.5.4 Ανοσοδοκιμασίες	41
3.6 Εκτίμηση των αποτελεσμάτων και αξιολόγηση των μεθόδων προσδιορισμού των υπολειμμάτων	41
4. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ Φ.Π. ΚΑΙ ΣΧΕΤΙΚΕΣ ΝΟΜΟΘΕΣΙΕΣ	44

4.1	Γενικά.....	44
4.2	Επαναξιολόγηση δραστικών ουσιών στα πλαίσια της Ε.Ε.	44
4.3	Ρυθμίσεις για την προστασία των καταναλωτών.....	48
5.	<i>ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΙ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΣΕ ΦΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ</i>	50
5.1	Επίδραση των μεταποιητικών διαδικασιών στα υπολείμματα των Φ.Π. στα φυτικά προϊόντα	50
5.2	Υπολείμματα στην τομάτα και άλλες καλλιέργειες.....	51
	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	56
6.	<i>ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ</i>	57
6.1	Γενικά.....	57
6.2	Οι καλλιέργειες του πειράματος.....	58
6.3	Φυτοπροστατευτικά προϊόντα και οι εφαρμογές τους στις καλλιέργειες	59
6.4	Δειγματοληψίες και προετοιμασία των δειγμάτων για ανάλυση.....	60
6.5	Διαλύτες και διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν	61
6.6	Εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε	62
6.7	Διαδικασία εκχύλισης δειγμάτων	63
7.	<i>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ</i>	65
7.1	Ποιοτική ανάλυση.....	65
7.2	Ποσοτικός προσδιορισμός.....	65
7.3	Πρότυπες καμπύλες – Επίδραση υποστρώματος.....	66
7.4	Αξιολόγηση της μεθόδου	70
7.5	Υποβάθμιση των υπολειμμάτων του rygiproxyfen σε καρπούς τομάτας.....	72
7.6	Υποβάθμιση των υπολειμμάτων του rygiproxyfen σε καρπούς πιπεριάς και μελιτζάνας	74
7.7	Υποβάθμιση των υπολειμμάτων του fenhexamid σε καρπούς τομάτας.....	78
7.8	Επίδραση της πλύσης στη μείωση των υπολειμμάτων rygiproxyfen	80
7.9	Επίδραση της πλύσης στη μείωση των υπολειμμάτων fenhexamid	82
8.	<i>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</i>	83
	<i>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</i>	86

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία, στα πλαίσια της υλοποίησης της πτυχιακής μου εργασίας, πραγματοποιήθηκε με σκοπό την παρακολούθηση της πορείας των υπολειμμάτων του pyriproxyfen στους καρπούς της τομάτας, της πιπεριάς και της μελιτζάνας σε πείραμα αγρού στις κλιματολογικές συνθήκες της χώρας μας. Το pyriproxyfen, είναι το νεότερο μέλος της ομάδας των ανάλογων νεανικής ορμόνης και χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση εντόμων αγροτικής, αλλά και υγειονομικής σημασίας και εφαρμόζεται με ψεκασμούς φυλλώματος σε αγγούρι, πιπεριά και τομάτα σε υπαίθριες ή υπό κάλυψη καλλιέργειες για την αντιμετώπιση προσβολών από αλευρώδη. Επίσης, στα πλαίσια της εργασίας αυτής, κρίθηκε ιδιαίτερα ενδιαφέρον να μελετηθεί μια συνήθης οικιακή διαδικασία, όπως είναι αυτή της πλύσης των λαχανικών, ως προς την επίδρασή της στη μείωση του υπολειμματικού φορτίου του pyriproxyfen. Παράλληλα με το pyriproxyfen μελετήθηκε στην τομάτα και η συμπεριφορά του μυκητοκτόνου fenhexamid τόσο στην καλλιέργεια όσο και στη διαδικασία της πλύσης των καρπών.

Το πειραματικό μέρος πραγματοποιήθηκε την άνοιξη και το καλοκαίρι του 2005 στο Αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας σε υπαίθριες καλλιέργειες τομάτας, πιπεριάς και μελιτζάνας καθώς και σε θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας, ενώ οι αναλύσεις για την παρακολούθηση των υπολειμμάτων στους φυτικούς ιστούς έγιναν στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Το κείμενο της εργασίας είναι οργανωμένο σε δύο μέρη, το θεωρητικό μέρος στο οποίο γίνεται βιβλιογραφική ανασκόπηση και το πειραματικό μέρος. Στο **θεωρητικό μέρος** δίνονται γενικές πληροφορίες για τις καλλιέργειες των λαχανικών που αφορούν την παρούσα εργασία (Κεφάλαιο 1), παρουσιάζονται τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα (Φ.Π.) της μελέτης και γίνεται βιβλιογραφική ανασκόπηση σχετικά με τη βιολογική τους δράση (Κεφάλαιο 2), προσεγγίζονται τα θέματα της τύχης των Φ.Π. στις καλλιέργειες και της μεθοδολογίας προσδιορισμού των υπολειμμάτων των Φ.Π. (Κεφάλαιο 3), παρουσιάζονται, στο Κεφάλαιο 4, η πορεία επαναξιολόγησης των δραστικών ουσιών που χρησιμοποιούνται ως Φ.Π. και ρυθμίσεις για την προστασία των καταναλωτών και τέλος (Κεφάλαιο 5) γίνεται βιβλιογραφική

ανασκόπηση εργασιών που σχετίζονται με τον προσδιορισμό και την υποβάθμιση και την τύχη των υπολειμμάτων Φ.Π. σε διάφορες καλλιέργειες φρούτων και λαχανικών.

Στο **πειραματικό μέρος**, παρουσιάζονται η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε στην εκτέλεση του πειράματος, η αναλυτική μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για την παρακολούθηση των υπολειμμάτων στα συλλεχθέντα δείγματα καρπών (Κεφάλαιο 6) και τέλος, παρουσιάζονται και συζητούνται, στα (Κεφάλαια 7 και 8) τα αποτελέσματα που προέκυψαν και αφορούν την αξιολόγηση της αναλυτικής μεθοδολογίας που ακολουθήθηκε, την πορεία των υπολειμμάτων στα δείγματα τομάτας, πιπεριάς και μελιτζάνας, καθώς και την επίδραση της πλύσης των καρπών στα υπολείμματα των Φ.Π. που χρησιμοποιήθηκαν.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Για την παρακολούθηση της υποβάθμισης των υπολειμμάτων του pyriproxyfen σε καρπούς τομάτας, πιπεριάς και μελιτζάνας πραγματοποιήθηκε πείραμα αγρού στο Αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας σε θερμοκηπιακές και υπαίθριες καλλιέργειες τομάτας, πιπεριάς και μελιτζάνας που δέχτηκαν, το καλοκαίρι του 2005, δύο επαναλαμβανόμενες επεμβάσεις με το εντομοκτόνο σκεύασμα Admiral 10EC (10% β/ο pyriproxyfen) στη συνιστώμενη δόση των 50mL/100L νερού. Στην καλλιέργεια της τομάτας έγιναν επίσης και επεμβάσεις με το μυκητοκτόνο Teldor 50WG (50% β/β fenhexamid) στη συνιστώμενη δόση των 150gr/100L νερού.

Για την παρακολούθηση των υπολειμμάτων συλλέχθηκαν δείγματα καρπών σε διάφορες ημερομηνίες μετά την κάθε επέμβαση και προσδιορίστηκε το φορτίο των υπολειμμάτων με σύστημα αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή αζώτου-φωσφόρου (GC – NPD) μετά από εκχύλιση των φυτικών δειγμάτων με κυκλοεξάνιο. Η μέθοδος προσδιορισμού αναπτύχθηκε και ελέγχθηκε για την αξιοπιστία της ως προς την ορθότητα, την ακρίβεια, την εξειδίκευση και την ευαισθησία, που βρέθηκαν ικανοποιητικές καθώς οι ανακτήσεις κυμαίνονταν από 94 έως 104% για όλα τα φυτικά υποστρώματα της μελέτης, ενώ η επαναληψιμότητα από 2 έως 7%. Τα όρια ποσοτικοποίησης (LOQs) βρέθηκαν 0.03mg a.i./Kg και 0.10mg a.i./Kg για το pyriproxyfen και το fenhexamid, αντίστοιχα για όλους τους φυτικούς ιστούς της μελέτης.

Οι συγκεντρώσεις του **pyriproxyfen** στα δείγματα της τομάτας και της μελιτζάνας ακόμη και λίγες ώρες (0 HME) μετά την πρώτη αλλά και την δεύτερη επέμβαση βρέθηκαν σαφώς σε χαμηλότερα επίπεδα από το εθνικό Ανώτατο Επιτρεπτό Όριο υπολειμμάτων (MRL) που είναι 0.30 mg a.i./Kg. Στην περίπτωση της πιπεριάς, αν και οι αρχικές συγκεντρώσεις (0 HME) βρέθηκαν είτε οριακά (στην πρώτη επέμβαση) είτε με υπέρβαση (στη δεύτερη επέμβαση) του MRL, οι τιμές των συγκεντρώσεων των υπολειμμάτων του pyriproxyfen στο χρονικό διάστημα των τριών ημερών από την εφαρμογή, δηλαδή το διάστημα της Τελευταίας Επέμβασης Πριν τη Συγκομιδή (ΤΕΠΣ), σύμφωνα με την ετικέτα του σκευάσματος, βρέθηκαν να είναι χαμηλότερες των τιμών MRL (0.50mg a.i./Kg) για την πιπεριά.

Η επίδραση της διαδικασίας της πλύσης των λαχανικών δεν μείωσε τα επίπεδα του pyriproxyfen σε κανένα από τα κηπευτικά της μελέτης, συμπεριφορά που αποδίδεται στον ισχυρά λιπόφιλο χαρακτήρα του μορίου, σε αντίθεση με την παρατηρηθείσα σημαντική μείωση (>85%) του fenhexamid στις τομάτες, που αποδίδεται στην ικανή τιμή της υδατοδιαλυτότητας του συγκεκριμένου μορίου.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΟΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΤΩΝ ΛΑΧΑΝΙΚΩΝ

1.1 Η καλλιέργεια της τομάτας

Η τομάτα (*Lycopersicum esculentum*) είναι κατά κανόνα ετήσιο λαχανικό, αρκετά διαδεδομένο και πολύ δημοφιλές. Ανήκει στην οικογένεια Solanaceae. Σε διεθνή κλίμακα, η καλλιέργεια της τομάτας καταλαμβάνει την τρίτη σε έκταση θέση μετά την πατάτα και τη γλυκοπατάτα, ενώ στην Ελλάδα η επιτραπέζια τομάτα καταλαμβάνει τη δεύτερη σε έκταση θέση μετά την πατάτα. Η δημοτικότητα της τομάτας ποικίλει στις διάφορες χώρες, αλλά είναι πολύ λίγες οι περιοχές της γης όπου η τομάτα δεν καλλιεργείται σε καμία από τις μορφές καλλιέργειάς της. Καλλιεργείται για τον καρπό της, ο οποίος καταναλώνεται ώριμος, νωπός, αποξηραμένος σε άλμη, ακέραιος ή σε πολτό. Ακόμη και άωροι καρποί (τοξικοί, εάν καταναλωθούν νωποί) συντηρούνται σε άλμη ή ξύδι. Είναι γνωστοί οι φόβοι που επικρατούσαν μέχρι τον 20^ο αιώνα στις περιοχές της Μεσογείου, Β. Ευρώπης και στη Β. Αμερική, ότι οι τομάτες περιέχουν τοξικές ουσίες, γεγονός που εμποδίζει την κατανάλωση τους. Οι φόβοι αυτοί οφείλονταν στην παρουσία δηλητηριωδών γλυκοαλκαλοϊδών στα φύλλα και στους καρπούς άλλων μελών της ίδιας οικογένειας. Αυτό ξεπεράστηκε στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, και από τότε η κατανάλωση της τομάτας αυξήθηκε σημαντικά. (Ολύμπιος, 2001)

Οι λόγοι που καθιστούν την τομάτα δημοφιλές λαχανικό είναι πολλοί. Οι σπουδαιότεροι είναι ότι εφοδιάζει τον ανθρώπινο οργανισμό με βιταμίνες, ιδίως τη βιταμίνη C, και το λυκοπένιο, έχει ελκυστικό χρώμα και ιδιαίτερο άρωμα, γεγονός που την καθιστά αρεστή στη διατροφή. Ποικιλίες της έχουν εγκλιματιστεί σε μεγάλο εύρος τύπων εδάφους και κλίματος, αν και θα πρέπει να τονιστεί ότι το φυτό απαιτεί θερμό κλίμα και εδάφη με καλή στράγγιση. Σήμερα, η καλλιέργεια της τομάτας εκτείνεται από τις τροπικές περιοχές μέχρι και μερικές μοίρες από τον αρκτικό κύκλο και στις μεν περιοχές όπου η διάρκεια της θερμής περιόδου το επιτρέπει, η τομάτα καλλιεργείται στο ύπαιθρο, ενώ σε άλλες περιοχές και σε περιόδους «εκτός εποχής» καλλιεργείται σε θερμοκήπια και άλλες κατασκευές υπό προστασία. Η μορφή καλλιέργειας της τομάτας ποικίλει από την εκτατική (μεγάλες εκτάσεις σε γραμμική καλλιέργεια πλήρως μηχανοποιημένη, με εφάπαξ συγκομιδή με μηχανικά μέσα), έως την εντατική (καλλιέργεια σε θερμοκήπια, υποστύλωση, κλάδεμα, επαναλαμβανόμενη συγκομιδή με το χέρι κλπ.).

Αξίζει να σημειωθεί ότι στην Ελλάδα ένα μεγάλο μέρος της έκτασης 53.8% (1997) καλλιεργείται με τομάτες που προορίζονται για μεταποίηση, το 39.8% είναι υπαίθρια καλλιέργεια για νωπή κατανάλωση και το 6.4% της έκτασης είναι η καλλιέργεια στα θερμοκήπια και χαμηλά σκέπαστρα. Το μεγαλύτερο ποσοστό των θερμοκηπίων που καλλιεργούνται με τομάτα, βρίσκεται στην Κρήτη με ποσοστό 35.4%, δεύτερη έρχεται η Δ. και Κ. Μακεδονία με 22.3% και τρίτη η Πελοπόννησος και Δ. Στερεά με 18.4%.

Το ύψος της παραγωγής ανά στρέμμα κυμαίνεται πολύ, γιατί επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως ποικιλία, εποχή καλλιέργειας, συνθήκες θερμοκηπίου, διάρκεια καλλιέργειας κ.α. Στην Ελλάδα μια μέση απόδοση 12-15 τον./στρ. θεωρείται ικανοποιητική.

Ο καρπός της τομάτας είναι πολύχωρος ράγα, με ποικίλα σχήματα. Ο καρπός των ποικιλιών με δυο χωρίσματα (χώρους) είναι συνήθως στρογγυλός, ενώ αυτών με τρία, τέσσερα, πέντε ή περισσότερα χωρίσματα είναι πεπλατυσμένος και πιθανόν ακανόνιστος. Τα κυριότερα συστατικά του καρπού της τομάτας είναι 94% νερό, 1.5-4.5% σάκχαρα, 0.14-0.15% υδατάνθρακες, 5% πρωτεΐνες και 0.2% λίπη.

Οι κυριότεροι ζωικοί εχθροί της τομάτας είναι οι νηματώδεις (*Meloidogyne spp* και *Heterodera rostochiensis*), οι σιδηροσκώληκες (*Agriotes obscurus*), διάφορα είδη αφίδων, οι θρίπες (*Thrips tabaci*), ο φυλλορύκτης της τομάτας (*Liriomyza solani*), ο τετράνυχος (*Tetranychus urticae*) και ο Αλευρώδης (*Trialeurodes vaporariorum*) (Σταμόπουλος, 1994).

Οι κυριότερες μυκητολογικές ασθένειες που προσβάλλουν την τομάτα είναι οι αδρομυκώσεις (*Verticillium dahliae*, *V. albo-atrum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*), η καστανή σήψη των ριζών ή φελλώδης σηψιρριζία (Brown root ή Corky root) (*Pyrinochaeta lycopersici*), η ντιντιμέλλα (*Didymella lycopersici*), η φαιά σήψη (*Botrytis cinerea*), ο όψιμος περονόσπορος (*Phytophthora infestans*), ο πρώιμος περονόσπορος (*Alternaria solani*), η κλαδοσπορίαση (*Cladosporium fulvum* και *Fulvia fulva*), το ωίδιο (*Leveillula taurica*) και η σκληρωτινίαση (*Sclerotinia sclerotiorum*)(Παναγόπουλος, 2000).

1.2 Η καλλιέργεια της πιπεριάς

Η πιπεριά (*Capsicum spp.*) καλλιεργείται σήμερα σε μεγάλες εκτάσεις στις εύκρατες και τροπικές ζώνες, κυρίως για τον καρπό της, που χρησιμοποιείται ως λαχανικό ή μπαχαρικό-καρύκευμα. Ανήκει στην οικογένεια Solanaceae. Υπάρχουν αρκετά είδη και βοτανικές ποικιλίες στο γένος *Capsicum*, γεγονός που συντελεί στη μεγάλη διαφοροποίηση που υπάρχει στους καρπούς, όσο αφορά το βαθμό καυστικότητας, σχήμα, μέγεθος, χρώμα κ.λπ.

Οι γλυκές πιπεριές έχουν το πιο ήπιο άρωμα και την πιο ελαφρά δριμύτητα από όλες τις πιπεριές. Καταναλώνονται νωπές σε σαλάτες ή μαγειρεμένες με διάφορους τρόπους. Η συγκομιδή του καρπού γίνεται στο στάδιο του «ώριμου πράσινου» καρπού ή του «ώριμου κόκκινου» ή «κίτρινου» ή «πορτοκαλιού» ή «ιώδους» κ.λπ. σταδίου. Οι νωπές γλυκές πιπεριές αποτελούν πλούσια πηγή βιταμινών, ιδιαίτερα σε βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ). Οι αποξηραμένες πιπεριές που έχουν έντονα καυτερή γεύση είναι πλούσιες σε βιταμίνη A.

Εκτός από τη χρήση τους σαν τροφή και καρύκευμα, οι πιπεριές έχουν και φαρμακευτικές ιδιότητες (κυρίως αυτές με την καυτερή γεύση). Μερικές χρησιμοποιούνται και ως καλλωπιστικές.

Στην Ελλάδα η καλλιέργεια της πιπεριάς δεν κατέχει σήμερα σημαντική θέση μεταξύ των κηπευτικών (ποσοστό έκτασης σε ανοικτές και υπό κάλυψη καλλιέργειες μαζί με γύρω στο 2.2% (1997), ενώ το ποσοστό έκτασης στις υπό κάλυψη καλλιέργειες κατά το 1996-97 ήταν 10.9%). Μια σειρά από αιτίες, όπως: **1)** η σημαντική ζήτηση του προϊόντος στη εγχώρια αγορά και ιδιαίτερα στο εξωτερικό κατά τους χειμερινούς μήνες, **2)** η εξαιρετική διαιτολογική αξία του καρπού της, **3)** το προσοδοφόρο της καλλιέργειάς της, **4)** η ύπαρξη περιοχών στην Ελλάδα με ευνοϊκές κλιματολογικές συνθήκες, **5)** η διάδοση και η τελειοποίηση των θερμοκηπίων, καθιστούν την καλλιέργεια της πιπεριάς υπό κάλυψη ενδιαφέρουσα και αφήνουν περιθώρια αύξησης της καλλιεργούμενης έκτασης, ενώ παράλληλα οι προοπτικές εξαγωγής πιπεριάς, που είναι ανταγωνιστική στις αγορές του εξωτερικού, διαγράφονται ευνοϊκές (Ολύμπιος, 2001).

Η μέση απόδοση στην Ελλάδα από καλλιέργειες γλυκιάς πιπεριάς κυμαίνεται από 5-8τον./στρ. Υπάρχουν όμως περιπτώσεις έμπειρων καλλιεργητών, οι οποίοι εξασφαλίζουν αποδόσεις 10 μέχρι και 15 τόνους το στρέμμα.

Ο καρπός είναι ράγα ο οποίος ποικίλει σε μορφή και μέγεθος ανάλογα με την ποικιλία, είναι πολύχωρος και πολύσπερμος και φέρει κοιλότητα μεταξύ του πλακούντα και των τοιχωμάτων του καρπού. Αρχικά το χρώμα του είναι πράσινο ή πρασινοϊώδες και όταν ωριμάσει χρωματίζεται ερυθρός, καστανέρυθρος, κίτρινος, κιτρινοπράσινος, πορτοκαλής ή ιώδης. Το χρώμα του καρπού οφείλεται σε μίγμα καροτινοειδών, με κυριότερη ουσία τη καψανθίνη ($C_{18}H_{27}O_3$) και σε μικρότερο βαθμό τα α και β καροτίνη, ξανθοφύλη, ζεαξανθίνη και κρυπτοξανθίνη.

Η γεύση στις γλυκές πιπεριές είναι ευχάριστη, δροσιστική με πολύ ελαφρά δριμύτητα. Η δριμύτητα οφείλεται σε αλκαλοειδή καυστική ουσία την καψαϊκίνη ($C_{18}H_{27}NO_3$) που βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση κυρίως στα διαφράγματα *septa* και στον πλακούντα του καρπού και όχι τόσο στα τοιχώματα του καρπού. Οι σπόροι, επίσης, έχουν μια μικρή ποσότητα της καυστικής ουσίας.

Τα κύρια συστατικά του καρπού της πιπεριάς είναι 93.4% νερό, 1.2% πρωτεΐνες, 4.8% υδατάνθρακες και 0.2% λίπη.

Οι κυριότεροι ζωικοί εχθροί της πιπεριάς είναι διάφορα είδη αφίδων, ο τετράνυχος (κόκκινη αράχνη) (*Tetranychus spp.*) και ο Αλευρώδης (*Trialeurodes vaporariorum*) (Σταμόπουλος, 1994).

Οι κυριότερες μυκητολογικές ασθένειες που προσβάλλουν την πιπεριά είναι η φαιά σήψη (*Botrytis cinerea*), το ωίδιο (*Leveillula taurica*), η σκληρωτίνιαση (*Sclerotinia sclerotiorum*), οι αδρομυκώσεις (*Verticillium dahliae* και *Fusarium spp.*) και οι σηψιρριζίες (Παναγόπουλος, 2000).

1.3 Η καλλιέργεια της μελιτζάνας

Η μελιτζάνα (*Solanum melongena*) είναι ένα φυτό το οποίο καλλιεργείται κυρίως για του καρπούς του. Ανήκει στην οικογένεια Solanaceae, όπως η τομάτα και η πιπεριά που προαναφέρθηκαν. Η πλειονότητα των καρπών της μελιτζάνας που καταναλίσκονται παράγεται σε ανοικτές καλλιέργειες. Επειδή όμως υπάρχει αρκετή ζήτηση και εκτός της κανονικής εποχής, το ενδιαφέρον για την καλλιέργεια της μελιτζάνας «υπό προστασία» παρουσιάζεται τα τελευταία χρόνια πολύ αυξημένο.

Σε παγκόσμια κλίμακα, το 91.5% της παραγωγής συναντάται στην Ασία και μόνο το 3.5% στη Ευρώπη.

Στην Ελλάδα καλλιεργούνται κάθε χρόνο γύρω στα 28460στρ. μελιτζάνας σε ανοικτές καλλιέργειες με παραγωγή γύρω στους 66480τον. (1997). Για παραγωγή εκτός εποχής σε θερμοκήπια και σε άλλες κατασκευές, το 1997 καλλιεργήθηκαν γύρω στα 2300στρ., με παραγωγή περίπου 18870τον. Οι αποδόσεις στο θερμοκήπιο κυμαίνονται από 7-8τον./στρ. μέχρι 10-15τον./στρ., ανάλογα με τη διάρκεια της συγκομιδής, την ποικιλία ή το υβρίδιο που καλλιεργείται και τις συνθήκες που εξασφαλίζονται στην καλλιέργεια κατά τη ανάπτυξη των φυτών. Εξαγωγές από την Ελλάδα γίνονται σε πάρα πολύ μικρή κλίμακα.

Ο καρπός είναι ράγα διαφόρων σχημάτων, σφαιροειδής, απιοειδής, ωοειδής, επιμήκης, κυλινδρικός. Ποικιλίες που έχουν προέλευση από την Ασία παράγουν περισσότερους καρπούς οι οποίοι είναι λεπτοί στη διάμετρο (4-5εκ.) και επιμήκεις (15-30εκ.). Το χρώμα επίσης ποικίλει από βαθύ μέχρι ανοιχτό ιώδες στις πιο δημοφιλείς καλλιεργούμενες σήμερα ποικιλίες, αλλά μερικές έχουν άσπρο ή και πράσινο χρώμα. Το χρώμα μπορεί να είναι ομοιογενές ή με ραβδώσεις ανοικτού και βαθέως χρώματος. Η επιφάνεια του καρπού είναι λεία και γυαλιστερή. Η σάρκα είναι λευκή και συμπαγής.

Ο καρπός της μελιτζάνας αποτελείται κατά κύριο μέρος, από νερό 92.5%, 5.6% υδατάνθρακες, 1.2% πρωτεΐνες και 0.2% λίπη.

Οι κυριότεροι ζωικοί εχθροί της μελιτζάνας είναι οι νηματώδεις (*Meloidogyne spp* και *Platylenchus sp*), οι αφίδες (*Aphis gossypii* και *Myzus persicae*), οι θρίπες (*Thripes tabaci* και *Frankliniella occidentalis*), οι φυλλορύκτες (*Liriomyza trifoliata* και *Liriomyza bryoniae*), ο τετράνυχος (*Tetranychus urticae*), ο Αλευρώδης (*Trialeurodes vaporariorum*) και φυλλοφάγα έντομα (*Spodoptera littoralis*, *Spodoptera exigua*, *Heliothis armigera*) (Σταμόπουλος, 1994).

Οι κυριότερες μυκητολογικές ασθένειες που προσβάλλουν τη μελιτζάνα είναι η φαιά σήψη (*Botrytis cinerea*), η σκληρωτινίαση (*Sclerotinia sclerotiorum*), η βερτισιλλώση (*Verticillium dahliae* και *V. Albo-atrum*), η φουζαρίωση (*Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici*), η ριζοκτόνια (*Rizoctonia solani*), η ανθράκωση (*Colletotrichum coccodes*) και η αλτερναρίωση (*Alternaria solani*, *A. Alternata*) (Παναγόπουλος, 2000).

1.4 *Trialleurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleurodidae) ο εχθρός των κηπευτικών

Το έντομο αυτό έχει αποβεί τα τελευταία χρόνια ένας από τους σοβαρότερους εχθρούς των καλλιεργούμενων φυτών στα θερμοκήπια, με ιδιαίτερη προτίμηση τη μελιτζάνα, αγγουριά, τοματιά, πιπεριά αλλά και καλλωπιστικά φυτά όπως π.χ. τη *Gerbera*. Η «άσπρη μύγα» όπως πολλές φορές αποκαλείται από τους παραγωγούς, προέρχεται από την Κ. Αμερική αλλά σήμερα θεωρείται κοσμοπολίτικο είδος εξαιτίας της γρήγορης εξάπλωσής της σε όλο σχεδόν τον κόσμο. Αναφέρεται ότι μπορεί να προσβάλει 250 διαφορετικά είδη φυτών. Συναντάται κυρίως στα θερμοκήπια, προσβάλλοντας το φύλλωμα ιδιαίτερα των Solanaceae και Cucurbitaceae, αλλά στις παραμεσόγειες χώρες είναι δυνατόν να προκαλέσει και ζημιές σε μεγάλες καλλιέργειες.

Το σώμα των τέλειων έχει μήκος περίπου 1mm και καλύπτεται από μια λευκή «σκόνη». Ζουν στην κάτω επιφάνεια των φύλλων και εάν οι θερμοκρασίες που επικρατούν είναι ευνοϊκές, πετούν και προσβάλλουν τα γειτονικά φυτά. Τα αυγά εναποτίθενται από το θηλυκό σε ομάδες των 20-40 σε ημικύκλιο. Στην αρχή έχουν χρώμα λευκωπό που αργότερα γίνεται σκούρο καθώς αναπτύσσεται το έμβρυο (8ημ. στους 21-24°C). Υπάρχουν τέσσερα προνυμφικά στάδια.



Εικόνα 1: Ενήλικα του εντόμου *Trialleurodes vaporariorum*

Οι νεοεμφανιζόμενες προνύμφες του πρώτου σταδίου έχουν ένα χρωματισμό πράσινο λαμπερό και είναι σε πρώτη φάση κινητές. Μόλις συναντήσουν την κατάλληλη φυλλική επιφάνεια, βυθίζονται στοματικά τους μόρια στο μεσόφυλλο και παραμένουν ακίνητες μυζώντας χυμούς.

Όλα τα υπόλοιπα προνυμφικά στάδια είναι ακίνητα και ζουν προσκολλημένα στην κάτω φυλλική επιφάνεια του ξενιστή. Η διάρκεια της ζωής από το αυγό έως το

στάδιο του τέλειου, εξαρτάται από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Έτσι, σε θερμοκρασία 12°C διαρκεί κατά μέσο όρο 113ημ., σε 18°C 39ημ. και σε 30°C 19ημ..

Τα τέλεια εξέρχονται από μια σχισμή του πουπαρίου και αρχίζουν αμέσως να μυζούν χυμούς. Τα παρθένα θηλυκά γεννούν αποκλειστικά απλοειδή αυγά τα οποία δίνουν μόνο αρσενικά άτομα. Μετά από σύζευξη μπορούν να δώσουν τόσο απλοειδή όσο και διπλοειδή αυγά. Από τα τελευταία προκύπτουν θηλυκά άτομα.

Ο αριθμός των αυγών που γεννάει ένα θηλυκό, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό και από το φυτό ξενιστή και μπορεί να κυμαίνεται από 150-500. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο αριθμός των εναποτιθέμενων αυγών εξαρτάται από την πυκνότητα του πληθυσμού των τέλειων, ενώ η διάρκεια της ζωής των θηλυκών ατόμων εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό από το φυτό ξενιστή. Για τον ίδιο ξενιστή σημαντικό ρόλο παίζει και η θερμοκρασία.

Πίνακας 1: Επίδραση του φυτού ξενιστή στη διάρκεια ζωής των τέλειων θηλυκών του *T.vaporariorum* στο ύψος ωοτοκίας και θνησιμότητας των ατελών σταδίων του (Από Benuzzi & Nicoli, 1988).

Βιολογικοί παράμετροι	Μελιτζάνα	Αγγούρι	Τομάτα	Πιπεριά
Διάρκεια ζωής ♀♀ (σε ημ.)	40.4	16.7	8.6	3.2
Αρ., συνολικά αποτιθέμενων αυγών /♀	416	123	8.2	0.9
% θνησιμότητας ατελών σταδίων	9.2	7.4	21.7	92.5

Οι ζημιές που προκαλούνται από τους αλευρώδεις μπορούν να συνοψιστούν στα εξής:

- I. Μύζηση χυμών και εξασθένιση του φυτού.
- II. Ανάπτυξη του συμπλόκου των μυκήτων της «καπνιάς» στα μελιτώδη αποχωρήματα του εντόμου.
- III. Μετάδοση ιών ή/ και βακτηρίων.

Η καταπολέμηση του *T.vaporariorum* μπορεί να γίνει χημικά και βιολογικά. Για τη χημική καταπολέμηση του εντόμου τα σκευάσματα που χρησιμοποιούνται κυρίως στα θερμοκήπια, είναι το pirimicarb και το heptenophos. Το **pyriproxyfen** είναι το νεότερο σκεύασμα για την καταπολέμησή του. Η καταπολέμηση του αλευρώδη των θερμοκηπίων μπορεί να γίνει βιολογικά με τη βοήθεια του υμενοπτέρου *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Chalcidoidea).

2. ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

2.1 Γενικά

Ο φυσικός περιορισμός δεν είναι πάντα αρκετός για να περιορίσει τα βλαβερά έντομα στο βαθμό που επιθυμούμε. Για το λόγο αυτό, απαιτείται η λήψη μέτρων εναντίον των ζωικών εχθρών. Η λήψη των μέτρων αυτών, αποτελεί την **καταπολέμηση**. Μια από τις μεθόδους καταπολέμησης των εντόμων, είναι και η χημική, που βασίζεται στη χρήση διαφόρων φυτοπροστατευτικών προϊόντων και συγκεκριμένα, των εντομοκτόνων.

Φυτοπροστατευτικό προϊόν (Φ.Π.) είναι κάθε ουσία ή μίγμα ουσιών συμπεριλαμβανομένων και επεξεργασμένων ή μη φυτικών προϊόντων, δυναμένη να χρησιμοποιηθεί ως μέσον καταπολέμησης των εχθρών και των ασθενειών των φυτών ή να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα των εν λόγω ουσιών (Νόμος 721/ 1977).

Τα Φ.Π. διατίθενται σε σκευάσματα με διάφορες μορφές (Παπαδοπούλου – Μουρκίδου,1991), όπως:

- ✓ **Υγρά σκευάσματα**

Υδατικά διαλύματα (WS), βρέξιμες σκόνες (WP), πυκνά γαλακτοποιήσιμα σκευάσματα (EC), κάψουλες ή μικροκάψουλες μεγέθους 10μm, σκευάσματα υπέρμικρου όγκου (ULV).

- ✓ **Ξηρά σκευάσματα**

Σκόνες, κοκκώδη, ξηρά φυράματα, ξηρά καπνογόνα

- ✓ **Καπνογόνα**

- ✓ **Αεροζόλ**

- ✓ **Λοιπά σκευάσματα**

Δενδροκομικοί κηροί κ.λ.π.

Κάθε Φ.Π. περιέχει την ενεργή ουσία που είναι υπεύθυνη για τη δράση του, η οποία όμως σπάνια χρησιμοποιείται αυτή καθ' αυτή. Η δραστική ουσία αναμιγνύεται και επεξεργάζεται με τις βοηθητικές ουσίες. Γίνεται δηλαδή τυποποίηση του Φ.Π. που οδηγεί στην παραγωγή του σκευάσματος που εφαρμόζεται στο χωράφι (Καρπούζας, 2003).

2.2 Ουσίες ρυθμιστικές της ανάπτυξης των εντόμων – μιμητικές ορμονών

Όταν η νεανική ορμόνη είναι παρούσα, η προνύμφη κατά την έκδυση δίνει *πάλι* προνύμφη του επόμενου σταδίου, ενώ όταν η νεανική ορμόνη λείπει, από προνύμφη θα βγει νύμφη και από τη νύμφη ενήλικο. Όταν λοιπόν στο τελευταίο προνυμφικό στάδιο εφαρμόσουμε νεανική ορμόνη, η νύμφη (pupa) που θα προκύψει θα έχει ορισμένα προνυμφικά χαρακτηριστικά. Κάτι ανάλογο συμβαίνει και όταν επεμβούμε στο νυμφικό στάδιο. Από την έκδυση προκύπτει ή *πάλι* νύμφη (pupa) ανίκανη να εξελιχθεί σε ενήλικο ή ελαττωματικό μορφολογικά ενήλικο που δεν μπορεί να αναπαραχθεί ή που δεν μπορεί ούτε να απελευθερωθεί από το νυμφικό περίβλημα. Οι νεανικές λοιπόν ορμόνες (juvenile hormones ή για συντομία JH) εμποδίζουν τα έντομα να ενηλικιωθούν. Συνεπώς, για να συμπληρώσουν κανονικά την ανάπτυξή τους τα έντομα, πρέπει η συγκέντρωση της νεανικής ορμόνης στο σώμα τους να είναι μικρή ή μηδαμινή. Αν στις περιόδους αυτές δώσουμε στο έντομο νεανική ορμόνη ή μιμητική της ουσία, προκαλούμε ανωμαλία στη μορφογένεση του ενήλικου με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενδιάμεσων μορφών, μεταξύ ανηλίκου και ενηλίκου, που είναι ανίκανες να τραφούν, να συζευχθούν ή να αναπαραχθούν και που γρήγορα ψοφούν. Οι εξωγενείς νεανικές ορμόνες μπορεί να προκαλέσουν ανωμαλία και στην εμβρυογένεση, οπότε τα αυγά δεν εκκολάπτονται. Ουσίες μιμητικές της νεανικής ορμόνης των εντόμων έχουν βρεθεί σε αξιόλογες ποσότητες σε φυτά. Περιλαμβάνουν τα σεσκιτερπένια, τη φαρνεσόλη, το φαρνεσενικό οξύ και ορισμένα άλλα παράγωγα.

Πλεονέκτημα των ουσιών μιμητικών ορμονών των εντόμων που δοκιμάστηκαν ως τώρα, είναι η έλλειψη τοξικότητας για τα θερμόαιμα ζώα. Μειονέκτημα είναι ότι απαιτούν εφαρμογή σε ορισμένο στάδιο του εντόμου. Αυτό μειώνει την αποτελεσματικότητά τους για πληθυσμούς ανομοιογενείς ως προς την ηλικία.

Γενικά, τα ανάλογα των ορμονών των εντόμων και άλλες ουσίες που επηρεάζουν την ανάπτυξη και εξέλιξη των εντόμων, ουσίες δηλαδή που θα μπορούσαμε να τις ονομάσουμε «ορμονικά εντομοκτόνα», πιστεύεται ότι θα βρουν πρακτική εφαρμογή, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις όπου τα κλασικά εντομοκτόνα δεν είναι αποτελεσματικά, είτε εξαιτίας της ανθεκτικότητας των εντόμων σε αυτά είτε για άλλους λόγους. Όπως αναφέρει ο Browers, το κύριο μειονέκτημα των ουσιών αυτών, από πλευράς αποτελεσματικότητας, είναι η εύκολη αποικοδόμησή τους. Με κατάλληλη τυποποίηση το μειονέκτημα αυτό θα περιοριστεί και οι εφαρμογές τους θα πολλαπλασιαστούν. Η εύκολη όμως βιολογική αποικοδόμησή τους είναι και

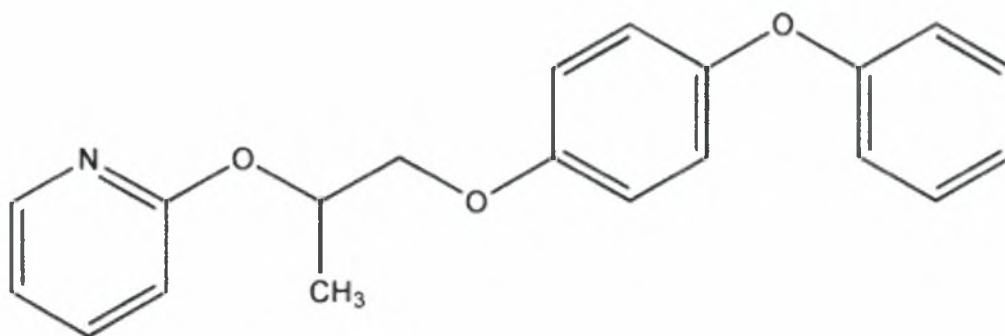
πλεονέκτημα, διότι δεν δημιουργείται ρύπανση του περιβάλλοντος και περιορίζει τους κινδύνους για οργανισμούς που δεν εκτίθενται άμεσα στις ουσίες αυτές. (Τζανακάκης, 1995)

2.2.1 pyriproxyfen

Το pyriproxyfen, είναι το νεότερο μέλος της ομάδας αυτής και χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση εντόμων αγροτικής, αλλά και υγειονομικής σημασίας. Από έρευνες που έχουν γίνει έχει αποδειχθεί ότι είναι ισχυρός αναστολέας της εμβρυογένεσης και του ενήλικου σχηματισμού των αλευρωδών *Bemisia tabaci* και *Trialeurodes vaporariorum*. Εφαρμόστηκε για πρώτη φορά στη Ιαπωνία το 1989.

Το εμπορικό όνομα του προϊόντος που περιέχει pyriproxyfen είναι το Admiral 10 EC. Έχει ωοκτόνο (1-3 ημέρες) και νυμφοκτόνο (στάδια L1 και L2) καθώς και στείρωτική επί των ακμαίων θηλυκών δράση στους αλευρώδεις.

Η κατά IUPAC ονομασία του είναι 4-phenoxyphenyl(RS)-2-(2-pyridyloxy)propyl ether και η χημική του 2[1-methyl-2-(4-phenoxyphenoxy)ethoxy]pyridine. Το μοριακό του βάρος είναι 321.5 και ο γενικός χημικός του τύπος, $C_{20}H_{19}NO_3$. Έχει σημείο τήξης 47°C, τάση ατμών <0.013mPa (25°C) και συντελεστή K_{ow} $\log P = 5.37$. Οι μορφές που κυκλοφορεί είναι: EC, GR και WG (Pesticide manual, 2002).



Εικόνα 2: Συντακτικός τύπος της δραστικής ουσίας pyriproxyfen

Είναι ερεθιστικό και επικίνδυνο για το περιβάλλον. Στους πιθανούς κινδύνους για τον άνθρωπο αναφέρεται ότι μπορεί να προκαλέσει βλάβη στους πνεύμονες σε περίπτωση κατάποσης, ερεθίζει το δέρμα και υπάρχει κίνδυνος σοβαρών οφθαλμικών βλαβών. Μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον και είναι τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς.

Χρησιμοποιείται για ψεκασμούς φυλλώματος σε αγγούρι, πιπεριά και τομάτα θερμοκηπίου. Εφαρμόζεται κατά την περίοδο ανάπτυξης των πρώτων προσβολών από τους αλευρώδεις. Η δόση που συνιστάται είναι 50 mL σκευ./ 100 L νερού. Για θερμοκρασία μεγαλύτερη των 25°C απαιτείται μεσοδιάστημα εφαρμογών 10 ημέρες, ενώ για θερμοκρασία μικρότερη των 25°C, 15 ημέρες. Στην τομάτα θερμοκηπίου, σε υψηλούς πληθυσμούς του εντόμου πρέπει να χρησιμοποιείται κατάλληλο ακμαιοκτόνο και κατόπιν να εφαρμόζεται το Admiral 10 EC.

Πριν τη συγκομιδή των καρπών πρέπει να είναι υπάρχουν 3 ημέρες αναμονής από την εφαρμογή του σκευάσματος. Ο όγκος του ψεκαστικού υγρού για την τομάτα, την πιπεριά και το αγγούρι συνιστάται να είναι 100-150 L/ στρ. και ο μέγιστος αριθμός εφαρμογών ανά καλλιεργητική περίοδο πρέπει να είναι 1-2. (Γιαννοπολίτης, 2005).

2.2.2 Πειράματα μελέτης του pyriproxifen

Σύμφωνα με έρευνα που πραγματοποιήθηκε στο Βέλγιο το 1994, η αντιμετώπιση ενηλίκων του *Trialeurodes vaporariorum* σε σπορόφυτα τομάτας έγινε με τη χρήση pyriproxifen και οι τιμές LC₅₀ ήταν 0.12 και 0.10mg a.i/L για την καταστολή της εκκόλαψης των αυγών και της ενήλικης εμφάνισης, αντίστοιχα. Τα σπορόφυτα τα οποία έφεραν αυγά 0-1 ημέρας ή προνύμφες πρώτου σταδίου ψεκάστηκαν με pyriproxifen και οι τιμές LC₅₀ ήταν 0.043 και 0.036mg a.i/L ενώ τα αυγά >3 ημερών δεν επηρεάστηκαν. Το pyriproxifen δεν βρέθηκε να έχει καμία επίδραση στα προνυμφικά στάδια, αλλά βρέθηκε να καταστέλλει την ενήλικη εμφάνιση. Τα συμπεράσματα αυτής της έρευνας αποδεικνύουν ότι η επίδραση του pyriproxifen σε όλα τα στάδια του *Trialeurodes vaporariorum*, είτε άμεση είτε έμμεση, μπορεί να θεωρηθεί θετική για τον έλεγχο αυτού του αλευρώδη στα λαχανικά και στα καλλωπιστικά (Ishaaya *et al*, 1994).

Παρόμοια έρευνα με την προηγούμενη πραγματοποιήθηκε σε σπορόφυτα τομάτας και βαμβακιού για την καταστολή της εκκόλαψης των αυγών των *Bemisia tabaci* και *Trialeurodes vaporariorum* (Ishaaya *et al*, 1995). Τα σπορόφυτα που ήταν προσβεβλημένα με αυγά 0-1 ημέρας ψεκάστηκαν με pyriproxifen σε συγκέντρωση 0.10 mg a.i/L και αυτό οδήγησε στην καταστολή του 90% της εκκόλαψης των αυγών των δυο παρασίτων. Οι LC₉₀ τιμές για τη βιωσιμότητα των αυγών των *Bemisia tabaci* και *Trialeurodes vaporariorum* ήταν 0.05 και 0.20 mg a.i/L, αντίστοιχα. Η

αντιμετώπιση των προνυμφών με 0.04-5.00 mg a.i/L οδήγησε στην κανονική ανάπτυξη των προνυμφών μέχρι τη νύμφωση, όμως η ενήλικη εμφάνιση καταστάθηκε συνολικά.

Το pyriproxyfen έχει χρησιμοποιηθεί από τους Ισραηλινούς επιτυχώς για την καταπολέμηση του αλευρώδη στο βαμβάκι από το 1991 αλλά σε μελέτες που έγιναν το 1995 παρουσιάστηκε ανθεκτικότητα όταν έγιναν τρεις διαδοχικές εφαρμογές. Έτσι, προκειμένου να μην αναπτυχθεί ανθεκτικότητα πρέπει η χρήση του να γίνεται κατά τη διάρκεια της μέγιστης δραστηριότητας του παρασίτου ή να εναλλάσσεται με buprofezin και diafenthuiuron (Ishaaya *et al*, 1995).

Μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Αίγυπτο έδειξε ότι μίγμα pyriproxyfen και fenobucarb σε 1.00 και 1.25L/feddan, έδωσε τη μέγιστη μείωση της πυκνότητας του πληθυσμού των ανώριμων σταδίων του *Bemisia tabaci* σε ποσοστό 84.4%. Στη συνέχεια, το μίγμα σε 0.75 και 1.25L/feddan και το pyriproxyfen σε 1.00L/feddan, έδωσαν μειώσεις του πληθυσμού κατά 78.12% και 74.64%, αντίστοιχα. Επίσης, με το μίγμα παρουσιάστηκε μείωση των μολύνσεων από ιούς και ο αριθμός των καρπών και των ανθέων αυξήθηκαν (Zidan *et al*, 1994).

Οι ρυθμιστές ανάπτυξης εντόμων (IGRs) buprofezin και pyriproxyfen δοκιμάστηκαν στη διαχείριση του παράσιτου *Bemisia argentifolii* και την ανομοιόμορφη ωρίμανση των καρπών που προκαλεί συγκρινόμενα με το νεονικοτινοειδές διασυστηματικό εντομοκτόνο imidacloprid. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν παρόμοια με αυτά του imidacloprid, έστω και αν οι τρόποι δράσης τους διαφέρουν (Schuster, 2002).

Η αποτελεσματικότητα του pyriproxyfen στην καταπολέμηση του θρίπα *Frankliniella occidentalis* μελετήθηκε σε πειράματα σε καλλιέργειες λουλουδιών αλλά δεν παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του πληθυσμού του θρίπα (Ludwig *et al*, 2003).

Μια αξιολόγηση του pyriproxyfen για τον έλεγχο των προνυμφών των εντόμων φορέων της ελονοσίας και η επίπτωση της ελονοσίας, έγινε σε 12 χωριά της κεντρικής Σρι Λάνκα. Σε αυτά τα χωριά, υπάρχουν πολλές λίμνες στις κοίτες των ποταμών και των τάφρων άρδευσης, κατά τη διάρκεια της ξηράς περιόδου του έτους. Αυτές είναι οι κυριότερες θέσεις αναπαραγωγής των εντόμων φορέων της ελονοσίας, *Anopheles culicifacies* και *An. subpictus*. Οι συλλογές των ενήλικων κουνουπιών πραγματοποιήθηκαν με τη χρησιμοποίηση των τυποποιημένων μεθόδων και τα παρασιτολογικά στοιχεία συλλέχθηκαν από τις κλινικές ελονοσίας που ιδρύθηκαν για το πρόγραμμα μέσω των δύο κρατικών νοσοκομείων. Όλα τα χωριά στην περιοχή της μελέτης ήταν υπό τον υπολειμματικό ψεκασμό των σπιτιών με το lambdacyhalothrin.

Χρησιμοποιώντας τα δεδομένα του πρώτου έτους, τα χωριά διαχωρίστηκαν σε 6 χωριά με υψηλή συχνότητα ελονοσίας και 6 χωριά με χαμηλή. Μέσα σε κάθε ομάδα, 3 χωριά ορίστηκαν τυχαία για τον προνυμφικό έλεγχο σε όλες τις λίμνες των κοιτών των ποταμών, των τάφρων άρδευσης και των γεωργικών φρεατίων, με μια κοκκώδη μορφή του ρυθμιστή αύξησης των εντόμων, pyriproxyfen, σε συγκέντρωση 0.01mg a.i./L. Οι βιολογικές αναλύσεις έδειξαν ότι μια ενιαία εφαρμογή του pyriproxyfen εμπόδισε αποτελεσματικά την εμφάνιση των ενήλικων κουνουπιών στις λίμνες των κοιτών των ποταμών για μια περίοδο 190 ημερών. Η εφαρμογή προκάλεσε τη σημαντική μείωση των ενήλικων πληθυσμών των *An. culicifacies* (78%) και των *An. subpictus* (72%). Ομοίως, η ελονοσία μειώθηκε στα χωριά που έγινε η εφαρμογή περίπου κατά 70%. Το συμπέρασμα που προκύπτει είναι ότι το pyriproxyfen μπορεί να είναι πολύ αποτελεσματικό μέσο ελέγχου της ελονοσίας, εάν όλες οι πιθανές θέσεις αναπαραγωγής των εντόμων φορέων μπορούν να εντοπιστούν σε μια περιοχή (Yapabadara *et al*, 2004).

Η αποτελεσματικότητα δύο φωτοσταθερών ανάλογων νεανικής ορμόνης, fenoxycarb και pyriproxyfen και μιας φωτοσταθερής μορφής του methoprene στην παρεμπόδιση της εμφάνισης των ενήλικων ψύλλων των γατών, *Ctenocephalides felis* (Siphonoptera: Pulicidae) μελετήθηκε σε εδαφικά υποστρώματα αργίλου και τύρφης. Τα εδαφολογικά δείγματα με τα Φ.Π. εκτέθηκαν στο φως του ήλιου κατά τη διάρκεια μιας περιόδου 63 ημερών. Το methoprene ήταν τόσο αποτελεσματικό όσο και το fenoxycarb και το pyriproxyfen ενάντια στους ψύλλους των γατών μέχρι και 42 ημέρες στην άργιλο και στην τύρφη, στα πλαστικά δοχεία, σε μια συγκέντρωση 64.56 mg a.i./m². Έκτοτε, η δράση του μειώθηκε σημαντικά. Αντίθετα, το fenoxycarb και το pyriproxyfen παρουσίασαν ισχυρή δράση και τις 63 ημέρες. Οι LC₅₀ τιμές για το methoprene, το fenoxycarb και το pyriproxyfen χρησιμοποιούμενα για την παρεμπόδιση της εμφάνισης ψύλλων όταν εφαρμόζονται εδαφικά υπολογίστηκε ότι είναι 0.643, 0.031, και 0.028 ppm, αντίστοιχα (Rajapakse *et al*, 2002).

2.3 Αναστολείς βιοσύνθεσης εργοστερόλης

Στην κατηγορία αυτή (Sterol Biosynthesis Inhibitors, SBI) ανήκουν τρεις κυρίως κλάσεις μυκητοκτόνων, από διαφορετικές χημικές ομάδες, που δρουν σε διαφορετικά σημεία στη διαδικασία βιοσύνθεσης της εργοστερόλης στις μεμβράνες των μυκήτων.

Οι μεμβρανώδεις σχηματισμοί των μυκήτων (κυττοπλασματική και πυρηνική μεμβράνη, ενδοπλασματικό δίκτυο, μιτοχονδριακές μεμβράνες) χαρακτηρίζονται από την παρουσία εργοστερόλης σαν κύριο συστατικό. Η στερόλη αυτή δεν υπάρχει σε άλλες κατηγορίες οργανισμών εκτός από μερικά πρωτόζωα και ελάχιστα κατώτερα φύκη. Είναι στερόλη χαρακτηριστική των μυκήτων. Μόνο σε μια κατηγορία μυκήτων (τους ωομύκητες) η εργοστερόλη αντικαθίσταται από άλλες στερόλες στη δόμηση των μεμβρανών (Παναγόπουλος, 1984). Το γεγονός ότι απουσιάζει από τα θηλαστικά και τα φυτά καθιστά σημαντική την παρουσία της στην αντιμετώπιση των μυκητολογικών ασθενειών των φυτών με μυκητοκτόνα εξειδικευμένα στο να παρεμποδίζουν τη βιοσύνθεσή της στους μύκητες (Τζάμος, 2004).

Ανάλογα με το μηχανισμό δράσης τους τα μυκητοκτόνα αυτής της ομάδας κατηγοριοποιούνται σε τρεις ομάδες:

➤ **Αναστολείς του ενζύμου C14 – απομεθυλάση (SBI_s I) ή Κλάση I, των DMI_s**

Όλες οι ενώσεις της κλάσης αυτής δρουν ως παρεμποδιστές απομεθυλίωσης (De-Methylation Inhibitors) του ενζύμου C14 – demethylase στο μόριο της λανοστερόλης (πρόδρομη ουσία της εργοστερόλης). Έχουν παρατηρηθεί αρκετές περιπτώσεις ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε διάφορους μύκητες. Η κλάση αυτή, θεωρείται μέτριας επικινδυνότητας όσον αφορά την ανάπτυξη ανθεκτικότητας και θα πρέπει να ακολουθούνται τα συνιστώμενα προληπτικά μέτρα για αποφυγή του προβλήματος.

➤ **Αναστολείς των ενζύμων Δ14 αναγωγάση ή Δ8-Δ7 ισομεράση (SBI_s II) ή Κλάση II, των Αμινών**

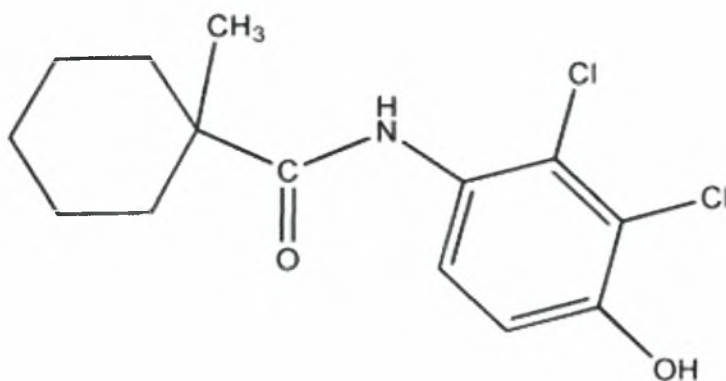
Παρεμποδίζουν την αναγωγή του διπλού δεσμού C-14(15) που προκύπτει από την απομεθυλίωση του C-14 αναστέλλοντας τη δράση του ενζύμου Δ14 αναγωγάση. Επίσης, παρεμποδίζουν τη μετατόπιση του διπλού δεσμού από τον C-8(9) σε C-7(8) αναστέλλοντας τη δράση του ενζύμου Δ8-Δ7 ισομεράση. Έχει παρατηρηθεί μείωση ευαισθησίας σε οΐδια. Η κλάση αυτή θεωρείται χαμηλής – μέτριας επικινδυνότητας ως προς την ανάπτυξη ανθεκτικότητας.

➤ **Αναστολείς του ενζύμου C4 – απομεθυλάση (SBI_s III) ή Κλάση III, των Υδροξυανιιδίων**

Αναστέλλει τη δράση του ενζύμου C4 – απομεθυλάση που ελέγχει την αντίδραση μετατροπής της 4,4-διμεθυλοφεκοστερόλης σε φεκοστερόλη. Θεωρείται χαμηλής – μέτριας επικινδυνότητας ως προς την ανάπτυξη ανθεκτικότητας. (Γιαννοπολίτης, 2005, Καρπούζας, 2003).

2.3.1 fenhexamid

Είναι μια νέα δραστική ουσία που ανακαλύφθηκε το 1989. Πήρε έγκριση και διατέθηκε στην αγορά πρώτη φορά το 1998 για την καταπολέμηση των *Botrytis cinerea*, *Monilinia* και *Sclerotinia*. Έχει προστατευτική κυρίως δράση και παρεμποδίζει την ανάπτυξη του βλαστικού σωλήνα και των μυκηλιακών υφών, ενώ δεν έχει ανασταλτική δράση στη βλάστηση των κονιδίων. Είναι αυτή τη στιγμή το πιο αποτελεσματικό μυκητοκτόνο για την καταπολέμηση του βοτρυτή. Ανθεκτικά στελέχη του μύκητα *Botrytis cinerea* έχουν ήδη απομονωθεί και η ανθεκτικότητά τους οφείλεται στην ικανότητά τους να μεταβολίζουν ταχύτατα το fenhexamid σε ανενεργούς μεταβολίτες (Καρπούζας, 2003).



Εικόνα 3: Συντακτικός τύπος της δραστικής ουσίας fenhexamid

Το εμπορικό σκεύασμα που περιέχει ως δραστική ουσία το fenhexamid είναι το Teldor 50WG από τη Bayer. Η κατά IUPAC ονομασία του είναι N-(2,3-dichloro-4-hydroxyphenyl)-1-methylcyclohexanecarboxamide. Έχει Μοριακό Βάρος 302.2 και ο γενικός χημικός του τύπος είναι $C_{14}H_{17}Cl_2NO_2$. Σε καθαρή μορφή είναι λευκή σκόνη. Το σημείο τήξεως του είναι $153^{\circ}C$, η τάση ατμών του $4 \cdot 10^{-4}$ ($20^{\circ}C$), έχει συντελεστή $K_{ow} \log P = 3.51$ ($pH=7$, $20^{\circ}C$), διαλυτότητα στο νερό 20mg/L ($pH=5-7$, $20^{\circ}C$) και οι μορφές που κυκλοφορεί είναι SC, WG και WP (Pesticide manual, 2002).

Χρησιμοποιείται για ψεκασμούς καλύψεως φυλλώματος στην τομάτα, προληπτικά, όταν οι συνθήκες ευνοούν την ανάπτυξη του βοτρυτή. Η δόση που συνιστάται είναι 150gr. σκευ./ 100 L νερού. Η εφαρμογή μπορεί να γίνει από την εφαρμογή των πρώτων καρπών και σε εναλλαγή με μυκητοκτόνα διαφορετικού τρόπου δράσης. Δεν παρουσιάζει τοξικότητα σε οργανισμούς μη στόχους και μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως και μια ημέρα πριν τη συγκομιδή. Ο όγκος του ψεκαστικού υγρού

που συνιστάται είναι για την τομάτα 100-150L/ στρ. και ο μέγιστος αριθμός εφαρμογών ανά καλλιεργητική περίοδο 1-3 (Γιαννοπολίτης, 2005).

Εκτενείς μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για την αξιολόγηση του fenhexamid σχετικά με την οικοτοξικολογική συμπεριφορά του και προέκυψε ότι μπορεί να θεωρηθεί ασφαλές για το περιβάλλον ενώ ταξινομήθηκε στην κατηγορία των ασφαλέστερων φυτοπροστατευτικών προϊόντων στις ΗΠΑ (Ecker *et al*, 1999).

Ο μεταβολισμός του μυκητοκτόνου fenhexamid μελετήθηκε στα σταφύλια, τις τομάτες, τα μήλα, το μαρούλι και τα μπιζέλια σε πειράματα αγρού. Σε όλες τις περιπτώσεις η δραστική ουσία ήταν το κυριότερο συστατικό καθώς μόνο ένα πολύ μικρό ποσοστό αυτής παρουσίασε οξείδωση στον κυκλοεξανικό δακτύλιο και έδωσε τους ανάλογους μεταβολίτες. Η συμπεριφορά fenhexamid στο χώμα χαρακτηρίζεται από γρήγορη διάσπαση και ανοργανοποίησή του με τιμές χρόνου ημίσειας ζωής μικρότερες από 1-2 ημέρες για όλους τους τύπους εδαφών που μελετήθηκαν. Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρήθηκε και σε φυσικά υδατικά συστήματα (Anderson *et al*, 1999).

3. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΥΣ

3.1 Γενικά

Ως **υπολείμματα** φυτοπροστατευτικών προϊόντων θεωρούνται ουσίες ή μίγματα ουσιών που βρίσκονται στην τροφή των ανθρώπων ή των ζώων και προέρχονται από τη χρησιμοποίηση Φ.Π.. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται και οι ουσίες που είναι προϊόντα διάσπασης, μεταβολισμού ή χημικής αντίδρασης εφόσον είναι τοξικολογικά σημαντικές (FAO, 1981). Εκτός, όμως, από την παρουσία μιας ουσίας στο προϊόν, ενδιαφέρει το ποσό και η **τοξικότητα** της. Η τοξικότητα των ουσιών διακρίνεται σε οξεία, υποξεία ή υποχρόνια και χρόνια. Η τοξικότητα μιας ουσίας είναι μια ιδιότητά της, ενώ η βλάβη που μπορεί να προκαλέσει είναι θέμα χρήσης της ουσίας. Η εκτίμηση της τοξικότητας μιας ουσίας είναι ένα περίπλοκο θέμα που απαιτεί πολλές μελέτες.

Ένας όρος που μας δίνει μια εκτίμηση της τοξικότητας για κάθε ουσία, είναι η **Ημερήσια Αποδεκτή Δόση** (Acceptable Daily Intake – ADI) και ορίζεται ως η ποσότητα της ουσίας σε mg/Kg σωματικού βάρους ανά ημέρα που μπορεί να καταναλώνει ένας άνθρωπος ή άλλο ζώο για όλη του τη ζωή χωρίς βλάβη της υγείας με βάση τα δεδομένα της επιστήμης. Ο καθορισμός της ADI είναι σχετικά δύσκολος, λόγω της αβεβαιότητας που υπάρχει στον καθορισμό της δόσης ή του επιπέδου που δεν επιφέρει κανένα παρατηρήσιμο αποτέλεσμα που να μπορεί να αξιολογηθεί εφαρμόζοντας όλες τις γνωστές τεχνικές της τοξικολογίας και προφανώς οι οποιεσδήποτε τιμές ADI θα ανανεώνονται σύμφωνα με τα νέα επιστημονικά δεδομένα (Λέντζα-Ρίζου, 1997^a, Παπαδοπούλου-Μουρκίδου, 1991^a).

Επίσης, αξιοσημείωτο είναι ότι οι μέσες τιμές των υπολειμμάτων για ένα δείγμα μιας περιοχής επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες, όπως η δόση, η μέθοδος εφαρμογής, η πυκνότητα φυτού και η θέση του στο χώρο, το στάδιο ανάπτυξης, οι μετεωρολογικές συνθήκες κατά τη διάρκεια εφαρμογής του φυτοφαρμάκου καθώς και ο χρόνος από την εφαρμογή μέχρι τη δειγματοληψία (Ambrus, 1999).

Για να ελέγχεται εάν τα Φ.Π. χρησιμοποιούνται στις ενδεικνύμενες δόσεις ώστε να προστατευτεί η υγεία των καταναλωτών και να διευκολύνεται το διεθνές εμπόριο, καθιερώθηκε ο όρος **Ανώτατο όριο υπολειμμάτων** (Maximum Residue Limit

– **MRL**) που εκφράζεται σε mg δραστικής ουσίας (a.i.)/ Kg προϊόντος (Λιάπης, 1997, Παπαδοπούλου-Μουρκίδου, 1991^β).

Τα MRL_s, προκύπτουν από στοιχεία από εποπτευόμενα πειράματα αγρού (Λέντζα-Ρίζου, 1994, Λιάπης, 1997). Για τον καθορισμό του MRL ενός Φ.Π. σε κάποιο γεωργικό προϊόν λαμβάνεται υπόψη η τιμή της ADI, το βάρος του ανθρώπου και το ποσοστό συμμετοχής του προϊόντος στην καθημερινή διαίτα ενός λαού ή ομάδας πληθυσμού, θεωρώντας ότι ο μέσος όρος ισχύει για το κάθε άτομο. Λαμβάνοντας υπόψη το ποσοστό συμμετοχής της τομάτας π.χ. στη διαίτα των Ελλήνων και των Γερμανών, τα MRL_s θα έπρεπε να καθοριστούν σε διαφορετικό ύψος, αφού ο ελληνικός λαός καταναλώνει πολύ μεγαλύτερες ποσότητες τομάτας και μάλιστα καθ' όλη τη διάρκεια του έτους.

Τα επίπεδα των υπολειμμάτων ή των MRL_s των Φ.Π. είναι συνήθως της τάξης των 0.01mg/Kg – 10mg/Kg. Για το **fenhexamid** το MRL στην Ευρωπαϊκή Ένωση για την τομάτα είναι το **1.00mg a.i. /Kg**. Τα MRL_s για το **pyriproxyfen** καταγράφονται στον ακόλουθο πίνακα (<http://www.mrldatabase.com>).

Πίνακας 2: MRL_s του pyriproxyfen (mg a.i. /Kg) σε τομάτα, πιπεριά και μελιτζάνα.

	Τομάτα	Πιπεριά	Μελιτζάνα
Ελλάδα	0.30	0.50	0.30
Γαλλία	0.10	-	-
Ισπανία	1.00	0.05	1.00
U.S.A.	0.20	0.20	0.20
Αυστραλία	0.20	0.20	0.20

3.2 Η τύχη των υπολειμμάτων στις υπαίθριες καλλιέργειες

Το ποσό των υπολειμμάτων που παραμένουν σε ένα γεωργικό προϊόν εξαρτάται από το είδος του προϊόντος, τις μετεωρολογικές συνθήκες, το φυτοπροστατευτικό προϊόν που χρησιμοποιήθηκε και το χρόνο που μεσολάβησε από την εφαρμογή του.

Οι παράγοντες, οι οποίοι, σε συνδυασμό με το χρόνο, καθορίζουν την υποβάθμιση των υπολειμμάτων μιας δραστικής ουσίας κάθε ουσίας στους φυτικούς ιστούς διακρίνονται (Αλμπάνης, 1996, Λόλας, 2003) σε διεργασίες αποδόμησης (βιολογική, χημική και φωτοχημική αποδόμηση), διεργασίες μετακίνησης (εξάτμιση,

πρόσληψη από τα φυτά, κ.α.). Ιδιαίτερη επίδραση στην υποβάθμιση των υπολειμμάτων έχουν επίσης και οι κλιματικοί παράγοντες όπως και το φαινόμενο της αραίωσης λόγω της ανάπτυξης του φυτικού ιστού.

- ✓ Εξάτμιση. Τις πρώτες ημέρες μετά την επέμβαση, ορισμένα Φ.Π. παρουσιάζουν μείωση των υπολειμμάτων που μπορεί να φτάσει το 60% ή και παραπάνω. Αυτό οφείλεται στο ότι το Φ.Π. παραμένει ακόμη στην επιφάνεια του φυτού και δεν έχει διεισδύσει στους ιστούς (Liapis *et al.*, 1994, Liapis *et al.*, 1995).
- ✓ Μεταβολισμός. Οι ουσίες που εισέρχονται στους φυτικούς ιστούς υπόκεινται σε μεταβολισμό σχηματίζοντας απλούστερες συνήθως ενώσεις, τους μεταβολίτες. Αναφερόμενοι στην μεταβολική τύχη των Φ.Π. μέσα στα φυτά μπορούμε να πούμε ότι διακρίνεται σε τέσσερα στάδια: Το **πρώτο στάδιο** αποτελούν, ανάλογα με το Φ.Π., οι διάφορες ενζυματικές μεταβολές στο μόριο του Φ.Π. που το καθιστούν λιγότερο δραστικό, ενώ σε ορισμένα Φ.Π. ενεργοποιούν τα μόρια τα οποία έτσι αποκτούν Φ.Π. δράση. Το **δεύτερο στάδιο** είναι ο σχηματισμός συμπλόκων με συστατικά του κυττάρου, όπως γλουταθειώνη, γλυκόζη ή αμινοξέα. Στο **τρίτο στάδιο** τα φυτά μεταφέρουν τα σύμπλοκα και τα ακινητοποιούν με δέσμευσή τους σε κυτταρικά συστατικά (π.χ. λιγνίνη) ή αποθήκευσή τους στα χυμοτόπια και/ή στα κυτταρικά τοιχώματα. Εκεί μπορούν να συμβούν και άλλες αλλαγές (**τέταρτο στάδιο**) και σχηματίζονται τα αδιάλυτα και/ή **δεσμευμένα υπολείμματα** (bound residues). Αντίθετα στους ζωικούς οργανισμούς τα σύμπλοκα αυτά είναι πολικά και στις περισσότερες περιπτώσεις αποβάλλονται. Από τα μέχρι σήμερα γνωστά φαίνεται ότι οι σπουδαιότερες μεταβολικές αντιδράσεις των Φ.Π. στα φυτά είναι δύο ειδών: **Οξειδώσεις** (Οξειδωση, Αναγωγή, Υδροξυλίωση, Απαλκυλίωση) και **Υδρόλυση** – Σχηματισμός συμπλόκων (Καρπούζας, 2003, Λόλας, 2003).
- ✓ Η αποδόμηση της ουσίας (Degradation), η οποία περιλαμβάνει κάθε μεταβολή στη δομή του μορίου ενός Φ.Π. που μπορεί να γίνει φυσικά, χημικά και φωτοχημικά, και έχει σαν αποτέλεσμα τη λύση δεσμών και δημιουργία νέων μικρότερων μορίων.
- ✓ Ανάπτυξη του φυτού. Με το διπλασιασμό του βάρους ενός καρπού υποδιπλασιάζεται η συγκέντρωση των υπολειμμάτων ακόμα και αν δεν υπάρχει καμία αποικοδόμησή τους. Η μείωση της συγκέντρωσης μιας ουσίας με την παραπάνω διαδικασία είναι σημαντική διεργασία σε προϊόντα με γρήγορη και μεγάλη αύξηση του καρπού, όπως τα κολοκυνθοειδή (Μηλιάδης, 1997).

- ✓ Κλιματικοί παράγοντες. Η θερμοκρασία επηρεάζει την ταχύτητα εξάτμισης, της διείσδυσης, της μετακίνησης και του μεταβολισμού των υπολειμμάτων στο φυτό. Η βροχή μπορεί να απομακρύνει τα Φ.Π. που βρίσκονται στην επιφάνεια, ενώ η αυξημένη σχετική υγρασία αυξάνει την ταχύτητα διείσδυσης στους ιστούς. Ο άνεμος επηρεάζει την εξάτμιση και μπορεί επίσης να απομακρύνει ποσότητα σκευάσματος που έχει εναποτεθεί σε στερεά μορφή. Η ηλιακή ακτινοβολία προκαλεί φωτολυτικές διασπάσεις και συνεπώς, μείωση του ύψους των υπολειμμάτων.

3.3 Προσδιορισμός των υπολειμμάτων

Η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός υπολειμμάτων Φ.Π. στα τρόφιμα, γνώρισε αλματώδη ανάπτυξη κατά τα τελευταία είκοσι χρόνια. Η καλύτερη γνώση της τοξικότητας των διαφόρων ουσιών και οι πιέσεις των καταναλωτών και των οικολογικών οργανώσεων προς τις κυβερνήσεις των ανεπτυγμένων χωρών και τους αρμόδιους φορείς ελέγχου, είχαν ως αποτέλεσμα την υποστήριξη της έρευνας με στόχο την ανάπτυξη των αναλυτικών δυνατοτήτων και τη μείωση των ορίων προσδιορισμού των παρασιτοκτόνων σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα από ότι τα παλαιότερα.

Τα στάδια των εργασιών για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των Φ.Π., είναι τα ακόλουθα:

- ✓ Δειγματοληψία.
- ✓ Επεξεργασία και αποθήκευση.
- ✓ Προετοιμασία αναλυτικού δείγματος.
- ✓ Επιλογή αναλυτικής μεθόδου.
- ✓ Εφαρμογή αναλυτικής μεθόδου.
- ✓ Διασφάλιση ποιότητας των αναλυτικών μετρήσεων.

3.3.1 Δειγματοληψία

Η παραγωγή μιας καλλιέργειας ελέγχεται δειγματοληπτικά, αφού είναι αδύνατο να ελεγχθεί στο σύνολό της. Η δειγματοληψία θα πρέπει να είναι αντιπροσωπευτική της συνολικής παραγωγής. Για το λόγο αυτό είναι τυχαία, έτσι ώστε να δίνεται η ευκαιρία σε όλα τα φυτά της παραγωγής να αποτελέσουν μέλη του δείγματος εφόσον η εκλογή τους γίνει αντικειμενικά, χωρίς προκατάληψη και χωρίς υποκειμενικότητα. Κατά τη

δειγματοληψία πρέπει να λαμβάνεται επαρκής ποσότητα γεωργικού προϊόντος προκειμένου να χρησιμοποιηθεί για τη διαδικασία του αναλυτικού ελέγχου.

Σε πειράματα αγρού ο «μάρτυρας», δηλαδή δείγμα από τεμάχιο που δεν έγινε επέμβαση με Φ.Π., πρέπει να λαμβάνεται σε επαρκή ποσότητα κάθε φορά που γίνεται δειγματοληψία και να μη γίνεται δειγματοληψία από τα περιθώρια του πειραματικού τεμαχίου του μάρτυρα, έτσι ώστε να αποφευχθούν επιμολύνσεις από γειτονικά τεμάχια. Στην αναλυτική διαδικασία ως δείγμα μάρτυρα μπορεί να χρησιμοποιηθεί γεωργικό προϊόν απαλλαγμένο από τα προς ανάλυση γεωργικά φάρμακα (μόρια στόχοι – target compounds) ή γεωργικό προϊόν βιολογικής καλλιέργειας.

Οι γενικοί κανόνες που ισχύουν για τη λήψη όλων των δειγμάτων είναι:

- Επιλογή απόλυτα υγιών φυτών ή μέρη αυτών με κανονική ανάπτυξη, όπως ακριβώς θα συγκομιζόταν για κατανάλωση.
- Αποφυγή απομάκρυνσης των επιφανειακών υπολειμμάτων των Φ.Π. (σκούπισμα, πλύσιμο κ.λ.π.) κατά τη λήψη ή συσκευασία των δειγμάτων.
- Λήψη επαρκούς ποσότητας για όλες τις πιθανές επαναλήψεις των αναλύσεων στο εργαστήριο.
- Αποφυγή επιμόλυνσης των δειγμάτων κατά τη λήψη και μεταφορά.

Για το σκοπό αυτό πρέπει να χρησιμοποιούνται απολύτως καθαρά εργαλεία (ψαλίδια, μαχαίρια), να αποφεύγεται η επαφή των δειγμάτων με χέρια ή ρούχα που ήρθαν σε επαφή με Φ.Π., τα δείγματα να μην εκτίθενται σε ακραίες καιρικές συνθήκες και να μην μεταφέρονται μαζί με σκευάσματα Φ.Π..

Ειδική προσοχή πρέπει να δίνεται στη συλλογή των δειγμάτων του μάρτυρα, τα οποία πρέπει να λαμβάνονται πριν από τα άλλα δείγματα, ώστε να αποφεύγεται η επιμόλυνση τους από τα εργαλεία ή τα χέρια.

3.3.2 Επεξεργασία δειγμάτων και αποθήκευση

Αντιπροσωπευτικό μέρος του δείγματος, που προκύπτει από το αρχικό δείγμα με την τεχνική της συνεχούς μείωσης με τεταρτημόρια, στο εργαστήριο ομογενοποιείται και μέρος του μεταφέρεται σε ειδικά σακουλάκια (αναλυτικό δείγμα), τα οποία αποθηκεύονται σε καταψύκτες σε θερμοκρασία -22°C. Στην αποθήκευση η αποικοδόμηση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων πραγματοποιείται με εξαιρετικά χαμηλή ταχύτητα. Πρέπει να επισημανθεί ότι τα δείγματα πρέπει να αναλύονται το

ταχύτερο δυνατό μετά τη συλλογή τους, ώστε να αποφευχθούν φυσικές και χημικές μεταβολές.

3.3.3 Επιλογή αναλυτικής μεθόδου

Ο έλεγχος των γεωργικών προϊόντων για την ύπαρξη υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων απαιτεί την ύπαρξη κατάλληλων εργαστηρίων εξειδικευμένων στη χημική ανάλυση ανίχνευσης και προσδιορισμού υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων στα τρόφιμα, την ύπαρξη εξειδικευμένου επιστημονικού και τεχνικού προσωπικού και τέλος, την επιλογή της κατάλληλης αναλυτικής μεθόδου προσδιορισμού υπολειμμάτων. Για την επιλογή αυτή (Μηλιάδης, 1985) λαμβάνεται υπόψη:

- Η διεθνής βιβλιογραφία, δηλαδή οι μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί στο συγκεκριμένο αντικείμενο.
- Η δυνατότητα που παρέχει η μέθοδος για ταυτόχρονο προσδιορισμό περισσότερων της μιας ουσιών.
- Η ικανότητα της μεθόδου για προσδιορισμό ουσιών σε συγκεντρώσεις αρκετά μικρότερες από το ανώτατο επιτρεπτό όριο (MRL).
- Η ικανότητα προσαρμογής της μεθόδου σε ένα μέσο εργαστήριο ανάλυσης υπολειμμάτων εφοδιασμένο με όργανα ρουτίνας.
- Ο σκοπός της ανάλυσης, αν δηλαδή η ανάλυση γίνεται για έλεγχο, έρευνα, επιβολή κυρώσεων κ.α. καθώς και οι απαιτήσεις για ταχύτητα ή ακρίβεια

Για να χρησιμοποιηθεί μια αναλυτική μέθοδος από το εργαστήριο υπολειμμάτων, πρέπει πρώτα να ελεγχθεί για μια σειρά από παράγοντες που καθορίζουν την αξιοπιστία της και οι οποίοι είναι: η **ορθότητα** (accuracy), η **ακρίβεια** (precision), το **όριο ανίχνευσης** (limit of detection), το **όριο προσδιορισμού** (limit of determination), η **ευαισθησία** (sensitivity), η **εκλεκτικότητα** (selectivity), η **ειδικότητα** (specificity).

3.4 Αναλυτική μεθοδολογία

Οι μέθοδοι προσδιορισμού των υπολειμμάτων διακρίνονται σε πολυδύναμες ή πολυυπολειμματικές (multi-residue methods) και εξειδικευμένες ή μονουπολειμματικές (specific methods). **Οι πολυδύναμες ή πολυυπολειμματικές (multi-residue methods)** αναπτύχθηκαν για να διευκολύνουν τον έλεγχο ρουτίνας (monitoring) των

φυτοπροστατευτικών προϊόντων και να επιτρέπουν τον ταυτόχρονο προσδιορισμό πολλών μορίων Φ.Π. (μέχρι και 200). Με τις μεθόδους αυτές προσδιορίζονται κυρίως Φ.Π. της ίδιας οικογένειας, όπως οργανοφωσφορικά, οργανοχλωριωμένα κ.α., αλλά και άλλων ομάδων αναλόγων των χρησιμοποιούμενων χρωματογραφικών ανιχνευτών. Είναι χρήσιμες για προκαταρκτικό έλεγχο των Φ.Π. (screening) αλλά, από μόνες τους δεν επαρκούν για την επισημάνση και τον προσδιορισμό του συνολικού φορτίου σε υπολείμματα ενός δείγματος (Λέντζα-Ρίζου, 1997^a). Συχνά χρειάζεται εφαρμογή δύο ή και περισσότερων πολυδύναμων μεθόδων ιδιαίτερα για μόρια τα οποία η ανάλυσή τους απαιτεί ξεχωριστές χρωματογραφικές τεχνικές (αέρια, υγρή χρωματογραφία). Για τις ουσίες που δεν είναι δυνατόν να προσδιοριστούν με κάποια πολυδύναμη μέθοδο, απαιτείται η χρήση εξειδικευμένων ή μονοϋπολειμματικών μεθόδων που είναι τόσες, όσες και τα φάρμακα που προσδιορίζουν. Τα τελευταία χρόνια με την ανάπτυξη της συζευγμένης χρωματογραφίας με φασματομετρία μάζας (GC-MS ή LC-MS) έχουν αυξηθεί εντυπωσιακά οι δυνατότητες των πολυδύναμων μεθόδων τόσο στον αριθμό των μορίων όσο και στην ταυτοποίησή τους, ώστε να αναφέρονται στη βιβλιογραφία μέθοδοι για 500 μόρια παρασιτοκτόνων (Alder *et al*, 2006).

Οι μέθοδοι προσδιορισμού υπολειμμάτων περιλαμβάνουν σε γενικές γραμμές τις ακόλουθες φάσεις:

1. Προετοιμασία των δειγμάτων

Σε ειδική οδηγία της Ε.Ε. ορίζεται το μέρος του γεωργικού προϊόντος στο οποίο αναφέρονται τα MRL_s και επομένως το μέρος στο οποίο πρέπει να γίνει η ανάλυση. Στις περισσότερες περιπτώσεις τα MRL_s αναφέρονται σε ολόκληρα προϊόντα, όπως αυτά κυκλοφορούν στο εμπόριο.

Το δείγμα που φτάνει στο εργαστήριο και πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικό του αρχικού φορτίου, υφίσταται μείωση και ομογενοποιείται με εργαστηριακούς ομογενοποιητές. Από το ομογενοποιημένο δείγμα λαμβάνεται εις διπλούν μια μικρή ποσότητα που προορίζεται για ανάλυση (αναλυτικό δείγμα) και μια ανάλογου βάρους ποσότητα αποθηκεύεται στον καταψύκτη ως αντιδείγμα. Η ποσότητα του δείγματος που αποθηκεύεται είναι συνήθως 10-50gr.

2. Εκχύλιση του δείγματος

Η εκχύλιση είναι η φάση κατά την οποία τα Φ.Π. λαμβάνονται από τους φυτικούς ιστούς με κατάλληλα εκχυλιστικά διαλύματα. Η επιλογή των εκχυλιστικών

μέσων είναι καθοριστικής σημασίας για την επιτυχία της ανάλυσης. Επιδίωξη είναι, το εκχυλιστικό μέσο που θα χρησιμοποιηθεί να διαθέτει μεγάλη εκχυλιστική ικανότητα, ώστε να μπορεί να «βγάλει» τα μόρια των Φ.Π. από τους ιστούς, παράλληλα όμως να είναι αρκετά εκλεκτικά για να αποφεύγεται η εκχύλιση ανεπιθύμητων ουσιών από το υπό μελέτη υπόστρωμα (το προς ανάλυση προϊόν), ώστε το εκχύλισμα να είναι όσο το δυνατόν πιο καθαρό. Οι περισσότερες φυτικές ουσίες είναι πολικές, με εξαίρεση τους κηρούς και τα έλαια. Ο κατάλληλος διαλύτης που θα χρησιμοποιηθεί, είναι εκείνος που θα έχει συγγενείς ιδιότητες και κυρίως παρόμοια πολικότητα με το υπό μελέτη φυτοφάρμακο. Ισχύει η γενίκευση «όμοια ομοίως διαλύονται» (like dissolves likes).

Ιδιαίτερη σημασία έχει η επιλογή του κατάλληλου εκχυλιστικού μέσου στις πολυϋπολειμματικές μεθόδους. Από τα Φ.Π., που μπορεί να έχουν χρησιμοποιηθεί στην παραγωγική διαδικασία ή μετασυλλεκτικά ή να περιέχονται στο δείγμα σαν συνέπεια προγενέστερων χρήσεων και ρύπανσης του περιβάλλοντος, άλλα είναι πολικά άλλα μη πολικά και άλλα μέσης πολικότητας. Επομένως, το εκχυλιστικό μέσο πρέπει να έχει την κατάλληλη σύνθεση ώστε να μπορεί να εκχυλίσει ουσίες με διαφορετική πολικότητα.

Για να πετύχουμε ικανοποιητική εκχύλιση χρησιμοποιούμε ομογενοποιητή μεγάλων ταχυτήτων (4000-5000 στροφές/ λεπτό), ενώ το δοχείο εκχύλισης (που είναι συνήθως μεταλλικό) βρίσκεται μέσα σε υδατόλουτρο ψύξης για αποφυγή υψηλών θερμοκρασιών. Η εκχύλιση των φυτικών ιστών πραγματοποιείται είτε σε κλειστά δοχεία τύπου «omni mixer» (Εικόνα 4) είτε σε ανοικτά, τύπου «ultra turax» (Εικόνα 5).



Εικόνα 4. Συσκευή omni mixer



Εικόνα 5. Συσκευή ultra turax

Οι πλέον χρησιμοποιούμενοι διαλύτες είναι η ακετόνη, ο οξικός αιθυλεστέρας, το διχλωρομεθάνιο, η μεθανόλη και το ακετονιτρίλιο. Το ακετονιτρίλιο δίνει καθαρότερα εκχυλίσματα (περισσότερο πολικό), είναι όμως περισσότερο τοξικό και για το λόγο αυτό έχει αντικατασταθεί από την ακετόνη. Η ακετόνη εξατμίζεται ευκολότερα (περισσότερο πτητική) είναι λιγότερο τοξική και σχετικά φθηνή αλλά έχει, όμως, μεγάλη συνεκχυλιστική ικανότητα. Ο οξικός αιθυλεστέρας είναι κατάλληλος για εκχύλιση πολικών και μη πολικών Φ.Π. και γενικά δίνει καθαρότερα εκχυλίσματα από την ακετόνη. Συχνά χρησιμοποιούνται και μίγματα διαλυτών όπως οξικός αιθυλεστέρας με εξάνιο, ισοπροπανόλη με τολουόλιο κ.α.

3. Διήθηση

Το προϊόν της εκχύλισης αποτελείται από τους φυτικούς ιστούς τεμαχισμένους σε πολύ μικρά σωματίδια (στερεή φάση) και την υγρή φάση. Για το λόγο αυτό διηθείται, έτσι ώστε να απομακρυνθούν τα στερεά σωματίδια. Η διήθηση γίνεται είτε με φυσική ροή πάνω από τεμάχιο υάλου χαλαζία ή υαλοβάμβακα ειδικής καθαρότητας, είτε υπό κενό σε χωνιά Buchner εφοδιασμένα με χάρτινο ηθμό.

4. Καθαρισμός του εκχυλίσματος

Το εκχύλισμα που λαμβάνεται από τη φάση της εκχύλισης είναι μίγμα του/ των διαλύτη/ διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε/ χρησιμοποιήθηκαν για την εκχύλιση και του νερού που περιέχονταν στους φυτικούς ιστούς. Περιέχει επίσης πολλές από τις φυτικές ουσίες που έχουν συνεκχυλιστεί (χρωστικές, κηρούς, αιθέρια έλαια κ.α.). Για να επιτευχθεί ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων των Φ.Π., θα πρέπει να απαλλαγούμε από όσο το δυνατόν μεγαλύτερο αριθμό ανεπιθύμητων ουσιών. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται διάφορες μέθοδοι καθαρισμού του εκχυλίσματος ανάλογα με τις φυσικοχημικές ιδιότητες του Φ.Π. και των συνεκχυλισμάτων (Μηλιάδης, 1998). Οι πιο συνηθισμένες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται, είναι:

- ❖ **Κατανομή μεταξύ δυο υγρών (LLE):** Στηρίζεται στο διαχωρισμό των χημικών ουσιών με βάση τη διαφορετική διαλυτότητά τους σε ένα σύστημα δύο μη αναμιγνυόμενων διαλυτών.
- ❖ **Χρωματογραφία προσρόφησης:** Το χρωματογραφικό σύστημα αποτελείται από μια στατική φάση (υλικό προσρόφησης) και μια κινητή φάση (διαλύτης έκλουσης). Τα συστατικά του μίγματος μεταφέρονται με την κινητή φάση δια μέσου της στατικής φάσης. Ο διαχωρισμός των ενώσεων στηρίζεται στη

διαφορετική προσρόφηση των ουσιών πάνω στην επιφάνεια του προσροφητικού.

- ❖ **Χρωματογραφία διαπερατότητας πηκτής ή χρωματογραφία μοριακού διαχωρισμού (GPC):** Εφαρμόζεται για το διαχωρισμό Φ.Π. από λιπώδη και ελαιώδη υποστρώματα. Χρησιμοποιείται μια στήλη πληρωμένη με κατάλληλου μεγέθους πόρους ρητίνης, συνήθως πηκτής πολυστυρενίου. Ενώσεις, όπως λίπη και χλωροφύλλη, εκκλύονται πρώτες και απομακρύνονται, ενώ τα Φ.Π. εκκλύονται αργότερα. Έπειτα παραλαμβάνεται το κλάσμα των Φ.Π., για το διαχωρισμό των οποίων εφαρμόζεται άλλου είδους χρωματογραφία.
- ❖ **Εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE):** Πρόκειται για εκχύλιση μεταξύ μιας στερεάς φάσης και μιας υγρής φάσης. Πραγματοποιείται ενεργοποίηση της στερεάς φάσης του φυσιγγίου με κατάλληλο διαλύτη, προσθήκη εκχυλίσματος, καθαρισμός της δραστικής ουσίας με κατάλληλους διαλύτες και έκλουση της δραστικής ουσίας με διέλευση κατάλληλου διαλύτη από το φυσίγγιο.
- ❖ **Σαρωτική συναπόσταξη**

5. Συμπύκνωση του εκχυλίσματος

Ο τελικός όγκος του διαλύματος που παραλαμβάνουμε από το προηγούμενο στάδιο απαιτείται συνήθως να ελαττωθεί σε 1-10mL με σκοπό την αύξηση της συγκέντρωσης του υπολείμματος. Αυτό επιτυγχάνεται με περιστροφικό εξατμιστή (rotary evaporator), όπου η εξάτμιση γίνεται υπό κενό σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες, συνήθως μέχρι 40°C, για να μη διασπάται η ουσία. Επίσης, μικροί όγκοι πτητικών διαλυτών μπορούν να εξατμιστούν με ρεύμα καθαρού αζώτου.

Πολλές φορές μετά τη συμπύκνωση ακολουθεί «αλλαγή διαλύτη» για λόγους χρωματογραφικής ανάλυσης. Στην περίπτωση αυτή η συμπύκνωση γίνεται «μέχρι ξηρού» και έπειτα προστίθεται ο νέος διαλύτης. Οι όγκοι πρέπει να μετρώνται με μεγάλη ακρίβεια γιατί επηρεάζουν σημαντικά τον τελικό προσδιορισμό.

6. Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός

Μέχρι το 1960 χρησιμοποιήθηκαν κυρίως βιολογικές μέθοδοι (βιοδοκιμές) ή μέθοδοι της κλασικής χημείας, όπως η χρωματομετρία, η χρωματογραφία σε χαρτί, η χρωματογραφία λεπτής στιβάδας κ.λ.π. Από τη δεκαετία του 1970 όμως και μετά, η μεθοδολογία προσδιορισμού υπολειμμάτων Φ.Π. γνώρισε αλματώδη πρόοδο και βασίζεται κυρίως στη χρήση εξειδικευμένων οργάνων ανάλυσης (ενόργανη ανάλυση). Τα όργανα αυτά είναι κυρίως ο αέριος χρωματογράφος, ο υγρός χρωματογράφος

υψηλής απόδοσης με τους κατάλληλους ανιχνευτές και τα συζευγμένα συστήματα αέριας ή υγρής χρωματογραφίας με φασματογραφία μάζας. Για ορισμένες εξειδικευμένες μεθόδους, χρησιμοποιείται ακόμη το φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους. Τα τελευταία χρόνια γνωρίζουν ανάπτυξη και οι βιοτεχνολογικές μέθοδοι (ανοσοδοκιμασίες-immunoassays).

3.5 Ενόργανες τεχνικές προσδιορισμού των υπολειμμάτων

3.5.1 Αέρια χρωματογραφία

Η τεχνική αυτή (Gas chromatography, GC) αναπτύχθηκε από τους Martin και James το 1952. Ο πρώτος αέριος χρωματογράφος διατέθηκε στο εμπόριο το 1959, και από τότε γίνονται συνεχείς βελτιώσεις.

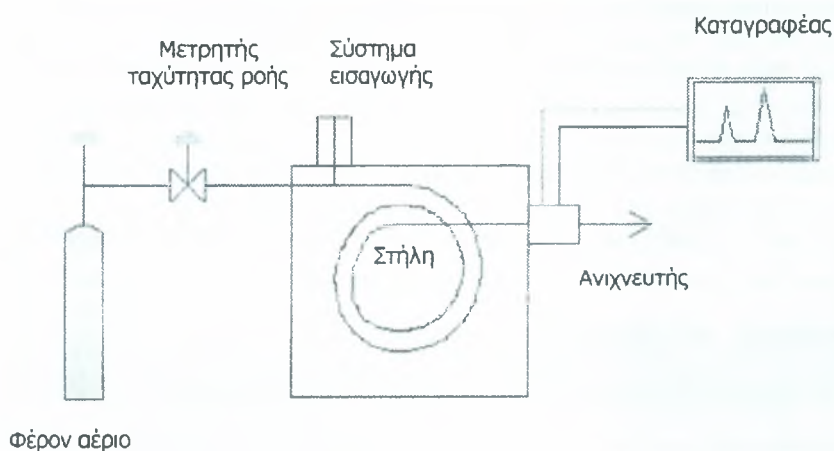
Με την τεχνική της αέριας χρωματογραφίας, μικρή ποσότητα (1-2 μL) από το τελικό εκχύλισμα εγχύεται στην κορυφή θερμαινόμενης ειδικής στήλης χρωματογραφίας τοποθετημένης σε κλίβανο ώστε το εκχύλισμα να μεταπέσει σε αέρια φάση. Ένα αδρανές αέριο κινείται μέσα στη στήλη και παρασύρει τους ατμούς του δείγματος. Ο χρόνος παραμονής κάθε ουσίας στη στήλη (χρόνος κατακράτησης, retention time), είναι συνάρτηση των ιδιοτήτων της και είναι ένα από τα κριτήρια για τον ποιοτικό προσδιορισμό. Το μέγεθος του σήματος που καταγράφεται από κατάλληλα όργανα στην έξοδο της στήλης, είναι το κριτήριο για τον ποσοτικό προσδιορισμό. Το σήμα καταγράφεται υπό μορφή κορυφής. Το ύψος της κορυφής ή καλύτερα η επιφάνεια χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό προσδιορισμό.

Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται κυρίως για Φ.Π. που έχουν ικανοποιητική πτητικότητα και θερμική σταθερότητα. Τα βασικά μέρη ενός συστήματος αέριας χρωματογραφίας είναι οι φιάλες παροχής αερίων (οβίδες), ο εγχυτής, ο φούρνος, η χρωματογραφική στήλη, ο ανιχνευτής και το καταγραφικό. Ο εγχυτής είναι το εξάρτημα μέσα στο οποίο γίνεται η έγχυση του δείγματος. Στα σύγχρονα όργανα οι εγχυτές μπορεί να είναι δύο τύπων, split-splitless ή on-column. Οι στήλες που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι τριχοειδείς, διαμέτρου 0.22-0.50mm και μήκους 15-50m. Η πολικότητα των στηλών είναι καθοριστική για την ανάλυση. Η χρησιμοποίηση στηλών διαφορετικής πολικότητας, συνίσταται σαν η πιο απλή και αξιόπιστη μέθοδος ταυτοποίησης και επιβεβαίωσης (confirmation) των χρωματογραφικών ευρημάτων.

Ο **ανιχνευτής** είναι το εξάρτημα που ανιχνεύει τις ουσίες στην έξοδο της στήλης. Οι ανιχνευτές είναι είτε εξειδικευμένοι για ορισμένα άτομα των μορίων ή μη εξειδικευμένοι. Οι πλέον χρησιμοποιούμενοι ανιχνευτές στην αέρια χρωματογραφία για αναλύσεις υπολειμμάτων, είναι:

- ✓ Ανιχνευτής αζώτου-φωσφόρου (NPD) που είναι εξειδικευμένος για ουσίες που περιέχουν άζωτο ή φώσφορο στο μόριό τους, π.χ. οργανοφωσφορικά, τριαζίνες.
- ✓ Ανιχνευτής δέσμευσης ηλεκτρονίων (ECD) για οργανοαλογονούχες ενώσεις.
- ✓ Ανιχνευτής φωτομετρίας φλόγας (FPD) που με το κατάλληλο φίλτρο προσδιορίζει ουσίες που στο μόριό τους περιέχεται θείο ή φώσφορος, π.χ. οργανοφωσφορικά.

Το **καταγραφικό** καταγράφει υπό μορφή κορυφής το σήμα. Στα σύγχρονα όργανα όλες οι παράμετροι ρυθμίζονται με σύστημα ηλεκτρονικού υπολογιστή όπου καταγράφονται και οι κορυφές. Με κατάλληλο software γίνεται η επεξεργασία των χρωματογραφικών σημάτων και προκύπτουν τα αποτελέσματα.



Εικόνα 6. Σχηματική παράσταση μιας πλήρους συσκευής αέριας χρωματογραφίας

3.5.2 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης

Η τεχνική της Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC), χρησιμοποιείται για προσδιορισμό υπολειμμάτων Φ.Π. που δεν μπορούν να προσδιοριστούν με αέρια χρωματογραφία, είτε λόγω θερμικής αστάθειας, είτε λόγω χαμηλής πτητικότητας, είτε λόγω μεγάλης πολικότητας, όπως τα βενζιμιδαζολικά μυκητοκτόνα, τα N-μεθυλοκαρβαμιδικά εντομοκτόνα και αρκετά ζιζανιοκτόνα όπως

φαινυλοξικά οξέα, φαινολικά παράγωγα της ουρίας και οι σουλφονυλουρίες. Το κύριο προσόν της είναι η λειτουργία της σε χαμηλές θερμοκρασίες και για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό ουσιών ευπαθών στις υψηλές θερμοκρασίες της αέριας χρωματογραφίας, όπως για παράδειγμα βιολογικών μορίων καθώς και ουσιών που δε μπορούν να αεριοποιηθούν (Παπαδογιάννης, 1992). Συνεπώς, η υγρή χρωματογραφία πλεονεκτεί σε σχέση με την αέρια στον προσδιορισμό πολικών, μη πτητικών και θερμοευαίσθητων ενώσεων. Μειονεκτεί στη διακριτική ικανότητα και συνεπώς σε εξειδίκευση. Μια συνήθης HPLC στήλη έχει 12500 θεωρητικές πλάκες σε αντίθεση με τις 150000 μιας τριχοειδούς στήλης GC, με συνέπεια, να διαχωρίζονται πολύ λιγότερες ουσίες ανά χρωματογράφημα.

Το χρωματογραφικό σύστημα της HPLC αποτελείται από τις φιάλες αποθήκευσης των διαλυτών (κινητή φάση), τα σύστημα απαέρωσης της κινητής φάσης, το σύστημα αντλιών, τον εγχυτή, τη χρωματογραφική στήλη, τη μονάδα θερμοστάτησης της στήλης, τον ανιχνευτή και τέλος το καταγραφικό με τη μονάδα επεξεργασίας του χρωματογραφικού σήματος.

Η τεχνική της υγρής χρωματογραφίας έχει αρκετά κοινά σημεία με την αέρια, όμως διαφέρει ως προς το ότι η ουσία παραμένει στην ίδια φυσική κατάσταση που είχε τόσο κατά την έγχυση όσο και κατά το διαχωρισμό της στη στήλη, και δεν αεριοποιείται. Επίσης η κινητή φάση είναι υγρή (διαλύτης ή μίγμα διαλυτών ή μίγμα διαλυτών και ρυθμιστικών διαλυμάτων) σε αντίθεση με την αέρια χρωματογραφία όπου είναι αέρια. Στην υγρή χρωματογραφία υπάρχουν πέντε διαφορετικοί μηχανισμοί διαχωρισμού: η χρωματογραφία προσρόφησης (adsorption), η χρωματογραφία κατανομής (partition), η χρωματογραφία προσδεμένης φάσης (bonded phase), η χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων (ion exchange) και η χρωματογραφία αποκλεισμού (exclusion). Επειδή δεν είναι πάντα σαφής η διάκριση μεταξύ κατανομής και προσρόφησης διακρίνουμε δύο είδη υγρής χρωματογραφίας ανάλογα με τις σχετικές πολικότητες μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσης:

- ❖ τη χρωματογραφία κανονικής φάσης (normal phase chromatography), όπου η στατική φάση είναι πιο πολική από την κινητή, με αποτέλεσμα οι λιγότερο πολικές ενώσεις να εκλούνται πρώτες και η έκλυση μιας ένωσης να γίνεται ευκολότερα με σχετική αύξηση της πολικότητας της κινητής φάσης και

- ❖ τη χρωματογραφία αντίστροφης φάσης (reverse phase chromatography), όπου η στατική φάση είναι λιγότερο πολική από την κινητή, με αποτέλεσμα οι πιο πολικές ενώσεις να εκλύονται πρώτες και η έκλυση μιας ένωσης να γίνεται ευκολότερα με σχετική μείωση της πολικότητας της κινητής φάσης.

Οι πλέον χρησιμοποιούμενοι ανιχνευτές στην υγρή χρωματογραφία για αναλύσεις υπολειμμάτων, είναι:

- **Απορρόφησης ορατού-υπεριώδους (UV-VIS)**. Είναι οι κατ' εξοχήν ανιχνευτές στην υγρή χρωματογραφία. Η λειτουργία τους στηρίζεται στη διέλευση της κινητής φάσης μέσα από κυψελίδα, στην οποία πέφτει δέσμη ακτίνων περιοχής UV-VIS. Ανιχνεύει ενώσεις που απορροφούν UV ή ορατό φως, όπως οι αρωματικές και οι ενώσεις με πολλαπλούς δεσμούς μεταξύ C και O, N ή S. Η κινητή φάση συνήθως απορροφά καθόλου ή ελάχιστη ακτινοβολία. Έχει ευαισθησία 10^{-6} ως 10^{-10} g/mL. Παρουσιάζει γραμμικότητα και γενικά δεν επηρεάζεται το σήμα από αλλαγές ροής ή πίεσης. Οι ανιχνευτές UV είναι τριών τύπων: **α)** σταθερού μήκους κύματος (λ), π.χ. 254nm, **β)** μεταβαλλόμενου μήκους κύματος και **γ)** σειράς φωτοδιόδων (photodiode array). Οι ανιχνευτές μεταβαλλόμενου μήκους κύματος πλεονεκτούν έναντι του σταθερού, γιατί έχουν αυξημένη ευαισθησία (επιλέγεται για την κάθε ουσία το βέλτιστο λ).
- **Φθορισμού (Fluorescent - FLD)**. Οι ανιχνευτές φθορισμού είναι πολύ ευαίσθητοι (10^{-12} g/mL) και πολύ εκλεκτικοί.
- **Diode Array Detector (UV-DAD)**. Ο ανιχνευτής αυτός είναι περισσότερο εκλεκτικός, μικρής όμως ευαισθησίας.
- **Φασματομετρίας μαζών**. Η φασματομετρία μαζών λειτουργεί υπό κενό, γι' αυτό αναζητήθηκαν τρόποι εισαγωγής της κινητής φάσης που εξέρχεται από τη στήλη μέσα στο MS. Υπάρχουν διάφορες τεχνικές ιονισμού και αντίστοιχοι διασυνδέτες (interfaces). Ο διασυνδέτης περιλαμβάνει την εισαγωγή του εκλούσματος της υγρής χρωματογραφίας στο MS σύστημα και τον ιονισμό του δείγματος (Μηλιάδης, 2004).

3.5.3 Φασματογραφία μάζας

Με την τεχνική αυτή (Mass spectrometry – MS), τα οργανικά μόρια οδηγούνται σε ένα χώρο όπου βομβαρδίζονται με ηλεκτρόνια, με συνέπεια την αποδόμησή τους και το σχηματισμό μοριακών ιόντων. Τα μοριακά ιόντα μετατρέπονται περαιτέρω σε κατιόντα και ουδέτερα μέρη. Τα θετικά φορτισμένα ιόντα διαχωρίζονται σε ένα μαγνητικό πεδίο και καταγράφονται ποσοτικά. Ο διαχωρισμός των ιόντων βασίζεται

στη σχέση μάζας : ηλεκτρικού φορτίου ($m:e$) και η όλη διαδικασία οδηγεί στην καταγραφή του φάσματος μάζας. Σήμερα οι χρωματογράφοι μάζας είναι συζευγμένοι με τα συστήματα αέριας και υγρής χρωματογραφίας παίρνοντας τη θέση των ανιχνευτών.

3.5.4 Ανοσοδοκιμασίες

Είναι βιοτεχνολογικές μέθοδοι που γνωρίζουν αρκετή διάδοση τα τελευταία χρόνια. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η μέθοδος ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Εξειδικευμένες ομάδες εργάζονται για τον προσδιορισμό Φ.Π. και ιδίως ζιζανιοκτόνων. Χρησιμοποιούνται ως αντιδραστήρια αντισώματα τα οποία παράγονται από πειραματόζωα ως αντίδραση του οργανισμού τους στη μόλυνση από ξένες ουσίες, τα αντιγόνα. Ως αντιγόνα δρουν μόνο μεγαλομοριακές ενώσεις ($M.B.>10.000\text{daltons}$). Τα περισσότερα όμως Φ.Π. είναι μικρομοριακές ενώσεις ($M.B.<1.000\text{daltons}$) και ως εκ τούτου δεν είναι δυνατόν να διεγείρουν το ανοσοποιητικό σύστημα των ζωντανών οργανισμών και να προκαλέσουν την παραγωγή αντισωμάτων στο αίμα τους.

Η επιτυχία της σύζευξης, που θα επιτρέψει στα Φ.Π. να καταστούν αντιγόνα προϋποθέτει ότι το μόριό τους διαθέτει κατάλληλες χημικές ομάδες. Στην αντίθετη περίπτωση, συντίθενται τέτοια παράγωγα της μητρικής ουσίας, που θα επιτρέψουν τη σύζευξη με πρωτεΐνη, χωρίς όμως να δημιουργήσουν προβλήματα άλλης φύσης. Τα παράγωγα αυτά ονομάζονται απτίνες.

3.6 Εκτίμηση των αποτελεσμάτων και αξιολόγηση των μεθόδων προσδιορισμού των υπολειμμάτων

Σε κάθε στάδιο της αναλυτικής μεθόδου υπάρχει ο κίνδυνος για πιθανό σφάλμα. Τα σφάλματα συχνά προέρχονται από παράγοντες όπως η άγνοια, λάθη, κακή επιστημονική κρίση. Για την αποφυγή τέτοιων σφαλμάτων, παράλληλα με την ανάλυση του κυρίως δείγματος αναλύονται και:

- Το τυφλό δείγμα αντιδραστηρίων (reagent blank), που περιέχει μόνο τους διαλύτες και τα αντιδραστήρια.
- Τα δείγματα του μάρτυρα (control sample), δηλαδή δείγμα χωρίς ίχνος από το Φ.Π. που εξετάζεται.
- Τα φορτισμένα δείγματα (spiked samples) που είναι δείγματα «μάρτυρα» τεχνητά φορτισμένα με τη δραστική ουσία που εξετάζουμε (Council Directive 94/43 EC).

Οποιαδήποτε μέθοδος προσδιορισμού υπολειμμάτων, ακόμα και αν χρησιμοποιείται ευρέως, πρέπει να αξιολογείται και να ελέγχεται από τον αναλυτή ή το εργαστήριο που πρόκειται να την χρησιμοποιήσει για πρώτη φορά. Ο έλεγχος αυτός γίνεται μελετώντας τα παρακάτω στοιχεία:

1. Την **ορθότητα** (accuracy), η οποία συνήθως ελέγχεται με πειράματα ανάκτησης αναλύοντας δείγματα που έχουν εμβολιαστεί με τη δραστική ουσία (εμβολιασμένα ή φορτισμένα δείγματα). Γνωστή ποσότητα του υπό μελέτη Φ.Π. προστίθεται σε ένα αλεσμένο δείγμα μάρτυρα και το δείγμα αναλύεται με την υπό δοκιμή μέθοδο και προσδιορίζεται η συγκέντρωση των υπολειμμάτων που περιέχονται σε αυτό. Η ποσότητα της δραστικής ουσίας που θα προσδιοριστεί συγκρίνεται με την ποσότητα της δραστικής ουσίας που έχει προστεθεί και εκφράζεται ως ποσοστό %. Ποσοστό ανάκτησης 100% είναι η ιδανική περίπτωση, όμως αυτό δεν είναι πάντα δυνατόν. Τα αποδεκτά εύρη ανάκτησης για αναλύσεις υπολειμμάτων, σύμφωνα με τις Οδηγίες της Ευρωπαϊκής Ένωσης (SANCO/10232/2006), κυμαίνονται από 70% έως 110%. Για ορισμένες δύσκολες περιπτώσεις μπορεί να γίνουν αποδεκτές ανακτήσεις της τάξεως 60-140%.

2. Την **ακρίβεια** (precision) των αποτελεσμάτων, που εκφράζεται με την επαναληψιμότητα (repeatability) και την αναπαραγωγιμότητα (reproducibility). Η επαναληψιμότητα είναι η δυνατότητα της μεθόδου να επιτυγχάνονται επαναλήψιμα αποτελέσματα από τον ίδιο τον αναλυτή κάτω από τις ίδιες συνθήκες. Για τον έλεγχο της επαναληψιμότητας πρέπει να γίνουν τουλάχιστον 3-5 ίδιες επαναλήψεις των πειραμάτων ανάκτησης. Η επαναληψιμότητα εκτιμάται με την % σχετική τυπική απόκλιση (RSD).

Η αναπαραγωγιμότητα είναι η ικανότητα της αναπαραγωγής των αποτελεσμάτων από άλλους αναλυτές στο ίδιο εργαστήριο σε μεγάλο χρονικό διάστημα (1-3 εβδομάδες) ή και από άλλα ανεξάρτητα εργαστήρια. Εκτιμάται με την % σχετική τυπική απόκλιση (RSD) των αποτελεσμάτων είτε με αναλύσεις εμβολιασμένων δειγμάτων ή και με επαναλήψεις αναλύσεων πραγματικών δειγμάτων.

3. Τη **γραμμικότητα του ανιχνευτή**. Συνήθως οι ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται στους προσδιορισμούς των υπολειμμάτων Φ.Π. είναι απαραίτητο να ελεγχθούν ως προς τα εύρη των συγκεντρώσεων των ενέσιμων διαλυμάτων στα οποία η απόκριση των ανιχνευτών είναι ανάλογη της πραγματικής συγκέντρωσης στο δείγμα. Ο

έλεγχος γίνεται με την έκχυση πρότυπων διαλυμάτων και τη χάραξη της καμπύλης αναφοράς του χρωματογραφικού σήματος.

4. Το **όριο ανίχνευσης** (Limit of Detection, **LOD**), δηλαδή η ελάχιστη συγκέντρωση στο δείγμα που μπορεί να ανιχνευθεί ποιοτικά με την εν χρήσει μέθοδο. Εάν ο αναλυτής δεν έχει χρωματογραφική απόκριση για κάποια δραστική ουσία σε αναλυόμενο δείγμα, αυτό δε σημαίνει ότι το δείγμα δεν περιέχει καθόλου την εν λόγω δραστική ουσία αλλά ότι αυτή μπορεί να βρίσκεται σε συγκέντρωση που να μην είναι δυνατή η ανίχνευσή της με τη συγκεκριμένη αναλυτική μεθοδολογία. Επομένως δε χρησιμοποιούμε ποτέ τον όρο «μηδέν υπολείμματα», αλλά τον όρο «μη ανιχνεύσιμα υπολείμματα». Πρακτικά, θεωρούμε ως όριο ανίχνευσης την ποσότητα του συστατικού που μας δίνει σήμα τριπλάσιο από το θόρυβο του χρωματογραφικού σήματος.
5. Το **όριο προσδιορισμού** (Limit of Quantitation, **LOQ**), που είναι το όριο πάνω από το οποίο μπορεί να επιτευχθεί ποσοτική μέτρηση με ικανοποιητικό βαθμό αξιοπιστίας. Πρακτικά, θεωρούμε ως όριο ανίχνευσης την ποσότητα του συστατικού που μας δίνει σήμα δεκαπλάσιο από το θόρυβο του χρωματογραφικού σήματος.

4. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ Φ.Π. ΚΑΙ ΣΧΕΤΙΚΕΣ ΝΟΜΟΘΕΣΙΕΣ

4.1 Γενικά

Για να μη δημιουργούνται προβλήματα στο εμπόριο, διεθνείς οργανισμοί έχουν αναλάβει τον εναρμονισμό των MRLs ώστε να εξυπηρετείται το εμπόριο χωρίς να αποβαίνει εις βάρος του λαού ενός κράτους. Τέτοιοι οργανισμοί είναι: ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών (FAO), η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO) και η Codex Committee on Pesticide Residues (CCPR). Τα θέματα που αφορούν τα Φ.Π. εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης ρυθμίζονται βάσει της οδηγίας 91/414/EEC περί φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Στην Ελλάδα οι αρμοδιότητες του ελέγχου είναι κατακερματισμένες σε πολλές υπηρεσίες. Το Γενικό Χημείο του Κράτους έχει αναλάβει ένα μεγάλο μέρος των ελέγχων αυτών. Επίσης, έλεγχος υπολειμμάτων γίνεται από τη Διεύθυνση Φυτοπροστασίας, τα Περιφερειακά Κέντρα Προστασίας Φυτών και το Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο.

Το πρώτο έτος εφαρμογής των οδηγιών του Συμβουλίου της Ευρώπης για τα υπολείμματα Φ.Π. ήταν το 1994. Με τις οδηγίες αυτές καθορίζονται τα ανώτατα όρια και επιβάλλεται στα κράτη μέλη να προβαίνουν σε συστηματικούς ελέγχους σε εγχώρια και εισαγόμενα προϊόντα και να κοινοποιούν τα αποτελέσματα των αναλύσεων. Η κοινοποίηση αυτή περιλαμβάνει τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν, τις ουσίες που ήταν δυνατό να ανιχνευθούν και να προσδιοριστούν, τον αριθμό των δειγμάτων που αναλύθηκαν, το ποσοστό των δειγμάτων με ανιχνεύσιμα υπολείμματα, το ποσοστό των δειγμάτων με συγκεντρώσεις που υπερέβαιναν τα κοινοτικά όρια και τα προϊόντα στα οποία βρεθήκαν.

Από την εξέταση των αποτελεσμάτων και τη σύγκριση των στοιχείων από διάφορες χώρες της Ε.Ε. φαίνεται ότι στο θέμα των ελέγχων υπολειμμάτων υπάρχει έντονη διαφοροποίηση μεταξύ «πλούσιων» και «φτωχών» χωρών.

4.2 Επαναξιολόγηση δραστικών ουσιών στα πλαίσια της Ε.Ε.

Η σημαντικότερη καινοτομία των τελευταίων χρόνων στο χώρο των Φ.Π., η οποία κινείται προς την κατεύθυνση της αειφορίας, είναι η αλλαγή στον τρόπο έγκρισης και διάθεσής τους στην αγορά. Στην Αναμόρφωση της Κοινής Αγροτικής Πολιτικής ήταν σαφής η πρόθεση της Ε.Ε. να συμπεριλάβει τους περιβαλλοντικούς στόχους και

μέσα στο κείμενο σχετικά με τις κατευθύνσεις προς την αειφόρο γεωργία, τη διάσταση της αειφορίας στη χρήση των Φ.Π.

Η αειφορία στη χρήση των Φ.Π. αποτέλεσε έναν από τους στόχους του 5^{ου} Προγράμματος Δράσης για το περιβάλλον το 1993, όπως αυτό αναθεωρήθηκε το 1998 και στο οποίο αναφέρεται ότι είναι αναγκαίο να καθοριστούν πρόσθετα μέτρα στον τομέα των Φ.Π. με σκοπό να εξασφαλιστεί η αειφορία στη χρήση τους και να μειωθούν οι εισροές χημικών ουσιών σε επίπεδα ώστε να μην επηρεάζεται καμία από τις βασικές φυσικές διεργασίες.

Το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο θέσπισε το 6^ο Πρόγραμμα Δράσης για το περιβάλλον, το οποίο προβλέπει την ανάπτυξη επτά Θεματικών στρατηγικών για τα κύρια περιβαλλοντικά προβλήματα. Ανάμεσα σε αυτές τις επτά Στρατηγικές είναι και η *Θεματική Στρατηγική για την Αειφορία στη Χρήση των Φυτοφαρμάκων*. Ο κύριος στόχος αυτής της στρατηγικής είναι η μείωση των επιπτώσεων των Φ.Π. στην υγεία του ανθρώπου και στο περιβάλλον, δηλαδή ελαχιστοποίηση των κινδύνων – αύξηση της αειφορίας στη χρήση τους, εξασφαλίζοντας όμως παράλληλα και την αναγκαία προστασία των καλλιεργειών. Έτσι με βάση αυτά θεωρήθηκε αναγκαίο να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα και αναθεώρηση της ισχύουσας νομοθεσίας για τα Φ.Π., προκειμένου να εξασφαλιστεί το υψηλό επίπεδο προστασίας της υγείας του καταναλωτή.

Μέχρι σήμερα το μεγαλύτερο μέρος της Κοινοτικής νομοθεσίας έχει εστιασθεί στο αρχικό και στο τελικό στάδιο του κύκλου ζωής των Φ.Π. Το αρχικό στάδιο του κύκλου ζωής των Φ.Π. είναι η έγκριση των χημικών ουσιών που χρησιμοποιούνται στα Φ.Π. πριν από τη διάθεσή τους στην αγορά και το τελικό στάδιο αυτού του κύκλου είναι τα ανώτατα όρια υπολειμμάτων (MRLs) στα τρόφιμα και στις ζωοτροφές. Συνεπώς, η επισκόπηση της σχετικής Κοινοτικής νομοθεσίας προς την κατεύθυνση της αειφορίας περιλαμβάνει την τροποποίηση της οδηγίας 91/414/ΕΟΚ για την έγκριση, τη διάθεση στην αγορά και τον έλεγχο των Φ.Π. και των οδηγιών που σχετίζονται με τον καθορισμό των MRLs στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές.

Η οδηγία 91/414/ΕΟΚ θεσπίζει ένα εναρμονισμένο σύστημα εγκρίσεων των δραστικών ουσιών σε επίπεδο Ε.Ε. Η επιτροπή της Ε.Ε. αποφασίζει κεντρικά την εγγραφή των ουσιών στο Παράρτημα Ι της οδηγίας (θετική λίστα) και στη συνέχεια τα κράτη – μέλη αξιολογούν και εγκρίνουν στη χώρα τους με το ίδιο ενιαίο και εναρμονισμένο σύστημα αξιολόγησης (ενιαίες αρχές), τα Φ.Π. Με τη διαδικασία αυτή επαναξιολογούνται όλες οι παλιές δραστικές ουσίες, δηλαδή ουσίες που

κυκλοφορούσαν αγορά της Ε.Ε. μέχρι 25-7-1993, και ταυτόχρονα εγκρίνονται και νέες δραστικές ουσίες.

Η διαδικασία προβλέπει ότι οι δραστικές ουσίες που από την αξιολόγηση προκύπτει ότι δεν ενέχουν μη αποδεκτούς κινδύνους, καταχωρούνται στο Παράρτημα Ι της οδηγίας και μόνο αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε Φ.Π. που θα εγκριθούν μεμονωμένα από τα κράτη – μέλη. Οι δραστικές ουσίες για τις οποίες δεν υπάρχουν οι σχετικές αποδείξεις ότι είναι ασφαλείς για την υγεία του ανθρώπου και για το περιβάλλον, δεν καταχωρούνται στη θετική λίστα και θα πρέπει να αποσύρονται από την αγορά.

Με βάση το παραπάνω σύστημα, το 1993, ξεκίνησε η επανεξέταση όλων των παλιών δραστικών ουσιών Φ.Π. που κυκλοφορούσαν στην αγορά μέχρι 25-7-1993 και προβλέφθηκε αρχικά να είναι δωδεκαετούς διάρκειας. Το πρόγραμμα επανεξέτασης, περιλαμβάνει μια ιδιαίτερα αργή και απαιτητική διαδικασία, η οποία περιλαμβάνει σύνταξη μονογραφίας από το κράτος – μέλος εισηγητή, επιστημονική αξιολόγηση από εμπειρογνώμονες – αξιολογητές των κρατών – μελών, συζητήσεις εμπειρογνομόνων στο πλαίσιο ειδικών συνεδριάσεων, διαβουλεύσεις στο πλαίσιο της Επιστημονικής Επιτροπής των Φυτών και ψηφοφορία στη Μόνιμη Επιτροπή Φυτοϋγείας. Για το λόγο αυτό, έχει δοθεί παράταση για την ολοκλήρωση της επανεξέτασης μέχρι το 2008. Οι ουσίες που είχαν εγκριθεί στα κράτη – μέλη μέχρι 25-7-1993, θα κυκλοφορούν μέχρι την επανεξέτασή τους οπότε και θα αποφασίζεται η συνέχιση ή μη της παραμονής τους στην αγορά.

Στο Πρόγραμμα αυτό (Review Program) εντάχθηκαν προς επανεξέταση 910 δραστικές ουσίες. Οι ουσίες αυτές κατανεμήθηκαν προκειμένου να επανεξετασθούν σε τέσσερεις φάσεις από τις οποίες οι τρεις πρώτες αφορούν τις κύριες ομάδες Φ.Π., ενώ στην τέταρτη περιλαμβάνονται διάφορες άλλες ανομοιογενείς κατηγορίες χημικών ουσιών, όπως φερομόνες, τρωκτικοκτόνα, μικροοργανισμοί, φυτικά εκχυλίσματα, ουσίες που έχουν εγκριθεί για χρήση στα τρόφιμα ή τις ζωοτροφές, απολυμαντικά και άλλες ουσίες Φ.Π. ανάμεσα στις οποίες είναι και το θειάφι.

Από τις 90 δραστικές ουσίες της πρώτης φάσης (Καν. 3600/92) μέχρι σήμερα οι 40 έχουν καταχωρηθεί στο Παράρτημα Ι και οι 27 έχει αποφασιστεί να μην καταχωρηθούν. Από τις 148 δραστικές ουσίες της δεύτερης φάσης (Καν. 451/2000 και 703/2001) οι 96 αποσύρθηκαν από την αγορά και από τις 402 δραστικές ουσίες της τρίτης φάσης (Καν. 451/2000 και 1490/2002) οι 249 αποσύρθηκαν από την αγορά, λόγω μη ύπαρξης ενδιαφέροντος από τους παρασκευαστές. Τέλος, από τις 270

δραστικές ουσίες της τέταρτης φάσης (Καν. 1112/2002) οι 91 δε θα καταχωρηθούν στο Παράρτημα Ι λόγω μη ύπαρξης ενδιαφέροντος κοινοποίησης από τους παρασκευαστές τους. Συνολικά, από τις 910 δραστικές ουσίες που κυκλοφορούσαν στην αγορά της Ε.Ε. μέχρι 25-7-1993 και οι οποίες εντάχθηκαν στο σύστημα επανεξέτασης, οι 463 έχουν ήδη αποσυρθεί. Αυτό μπορεί να ερμηνευθεί σε μια μείωση κατά 50% των δραστικών ουσιών που υπήρχαν στην αγορά το 1993. Ταυτόχρονα όμως, περίπου 100 νέες δραστικές ουσίες έχουν εμφανιστεί και ήδη οι 45 περίπου από αυτές έχουν καταχωρηθεί στο Παράρτημα Ι της οδηγίας.

Προκειμένου όμως να περιοριστούν τα προβλήματα που προκύπτουν στη γεωργική πράξη και να δοθεί ο απαραίτητος χρόνος στα κράτη – μέλη να αναπτύξουν εναλλακτικές λύσεις στα κενά που δημιουργούνται από τις αποσύρσεις ορισμένων δραστικών ουσιών, δίνεται η δυνατότητα παράτασης της χρήσης μέχρι 30-6-2007 και εξάντλησης των υπαρχόντων αποθεμάτων στις 30-12-2007, για όσες ουσίες θεωρηθεί από την Ε.Ε. μετά από πρόταση των κρατών – μελών, ότι υποστηρίζουν αιτιολογημένα «απαραίτητες χρήσεις». Αυτό σημαίνει ότι η κάθε χώρα ζητά άδεια κυκλοφορίας για συγκεκριμένες δραστικές ουσίες, για συγκεκριμένες καλλιέργειες, για συγκεκριμένες ασθένειες και για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, και μετά αποσύρονται.

Οι δραστικές ουσίες που καταχωρούνται στο Παράρτημα Ι για μια τουλάχιστον ασφαλή χρήση, πληρούν τα υψηλά κριτήρια ασφαλείας σχετικά με την επίδρασή τους στην ανθρώπινη υγεία και στο περιβάλλον. Το γεγονός ότι καταχωρούνται για μια τουλάχιστον ασφαλή χρήση περιορίζει σημαντικά τον αριθμό των αντιπροσωπευτικών χρήσεων οι οποίες και υποστηρίζονται από πειραματικά δεδομένα. Η εξέλιξη αυτή, που προέκυψε κατά τη διάρκεια του προγράμματος της επανεξέτασης, σε συνδυασμό με το μεγάλο αριθμό των δραστικών ουσιών που αποσύρονται και οι οποίες στην πλειονότητά τους είναι ευρέως φάσματος, ανέδειξε ένα καινούριο πρόβλημα. Αυτό των καλλιεργειών «μικρής σημασίας». Με τον όρο καλλιέργειες μικρής σημασίας εννοούμε τις καλλιέργειες που καλλιεργούνται σε μικρή έκταση και όπου οι χρησιμοποιούμενες ποσότητες Φ.Π. είναι μικρές. Τέτοιες καλλιέργειες είναι το σπαράγγι, το ακτινίδιο, το σέλινο, ο μαϊντανός, το φιστίκι Αιγίνης κ.λ.π. Για τις καλλιέργειες αυτές το ενδιαφέρον από την πλευρά των εταιρειών Φ.Π. για την παραγωγή των κατάλληλων σκευασμάτων με υψηλή αποτελεσματικότητα και μικρή υπολειμματικότητα είναι περιορισμένο, λόγω του μικρού μεγέθους της αγοράς στην οποία πρόκειται να απευθυνθούν τα προϊόντα μετά από την έγκριση της κυκλοφορίας τους. Αποτέλεσμα αυτού είναι να μην υπάρχουν εγκρίσεις ή να είναι περιορισμένες για τις «μικρής σημασίας» καλλιέργειες.

Για το σκοπό αυτό στο άρθρο 9 της οδηγίας 91/414/ΕΟΚ έχει προβλεφθεί διάταξη, σύμφωνα με την οποία επιτρέπεται η διεύρυνση του φάσματος δράσης ήδη εγκεκριμένων σκευασμάτων σε «μικρής σημασίας» καλλιέργειες. Υπό την πίεση αυτού του προβλήματος, στην Ελλάδα θεσπίστηκε ειδική διαδικασία για τη διεύρυνση του φάσματος δράσης εγκεκριμένων σκευασμάτων σε «μικρής σημασίας» καλλιέργειες. Σύμφωνα με τη σχετική Υπουργική Απόφαση **α)** ορίζεται ποιες είναι οι «μεγάλες» και οι «μικρές» καλλιέργειες και **β)** ορίζονται οι όροι και οι προϋποθέσεις προκειμένου να διευρυνθεί το φάσμα δράσης ήδη εγκεκριμένων Φ.Π. σε καλλιέργειες «μικρής σημασίας». Η αίτηση υποβάλλεται από ομάδες παραγωγών, συνεταιριστικές οργανώσεις, επίσημους ερευνητικούς φορείς του γεωργικού τομέα ή από επαγγελματίες αγρότες. (Καλαμαράκη, 2004)

Συμπερασματικά λοιπόν μπορούμε να αναφέρουμε ότι είναι βέβαιο ότι η οδηγία 91/414/ΕΟΚ κινείται προς την κατεύθυνση της αειφορίας στη χρήση των Φ.Π. και της μείωσης των κινδύνων από τη χρήση τους, τόσο μέσω του Προγράμματος επαναξιολόγησης των παλιών δραστικών ουσιών, όσο και μέσω του εφοδιασμού της αγοράς με Φ.Π. υψηλών προδιαγραφών ασφαλείας.

4.3 Ρυθμίσεις για την προστασία των καταναλωτών

Στις Ευρωπαϊκές χώρες πρώτο βήμα για την προστασία των καταναλωτών είναι:

- ✓ Ο προσδιορισμός της **Δόσης χωρίς Παρατηρήσιμη Επίπτωση** (No Observed Adverse Effect Level, **NOAEL**).
- ✓ Ο προσδιορισμός της **Αποδεκτής Ημερήσιας Λήψης** για τον άνθρωπο (Acceptable Daily Intake for man, **ADI**), που προκύπτει από τη χρήση ενός συντελεστή ασφαλείας, που εκφράζεται σε mg δραστικής ουσίας (a.i.)/ Kg ζώντος βάρους / ημέρα .
- ✓ Ο προσδιορισμός του **Ανώτατου Ορίου Υπολειμμάτων** (Maximum Residue Levels ή Limits, **MRL_S**), το οποίο αναφέρεται κάθε φορά σε συγκεκριμένο Φ.Π. και σε συγκεκριμένο γεωργικό προϊόν. Το MRL εκφράζεται σε mg a.i./ Kg προϊόντος. Σύμφωνα με αυτά, τα γεωργικά προϊόντα, εγχώρια ή εισαγόμενα, δεν επιτρέπεται να πωληθούν στο λιαν εμπόριο εάν οι δειγματοληπτικοί έλεγχοι δείξουν πως η περιεκτικότητά τους σε υπολείμματα Φ.Π. τα υπερβαίνει (Λέντζα-Ρίζου, 1999).

Τα μέτρα που πρέπει να ληφθούν για την αντιμετώπιση της παρουσίας υπολειμμάτων Φ.Π. στα φυτά αφορούν προληπτικά μέτρα και μέτρα κατά τη συγκομιδή:

A. Προληπτικά μέτρα:

- Πρέπει να τηρούνται με σχολαστικότητα οι ημέρες μεταξύ του τελευταίου ψεκασμού και της συγκομιδής και να μην ξεπερνιούνται οι συνιστώμενες δόσεις.
- Η καταπολέμηση για να είναι ικανοποιητική πρέπει να γίνεται προσεκτικά και έγκαιρα, με τις συνιστώμενες δόσεις και με κατάλληλα μηχανήματα εφαρμογής.
- Πρέπει να αποφεύγεται η χρήση Φ.Π. με μεγάλη διάρκεια ζωής.
- Η χρησιμοποίηση μεθόδων καταπολέμησης στα πλαίσια της Ολοκληρωμένης Καταπολέμησης.

B. Μέτρα μετά τη συγκομιδή:

- Είναι απαραίτητος ο έλεγχος κανόνων της ορθής γεωργικής πρακτικής, αφού ο έλεγχος των υπολειμμάτων είναι πολύπλοκος, εξειδικευμένος και πολύ υψηλού κόστους.
- Εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των προληπτικών μέτρων και χάραξη κατάλληλης στρατηγικής.

Σε χώρες που πρωτοπορούν στον έλεγχο των τοξικών υπολειμμάτων στα τρόφιμα, το κοινό είναι ευαισθητοποιημένο και απαιτητικό σε βαθμό που επηρεάζει και τους νομοθέτες και τους κυβερνώντες. Τα μέτρα κρίνονται και αναθεωρούνται κατά διαστήματα, ανάλογα με τα αποτελέσματά τους. Στις χώρες όπου εφαρμόζεται αυστηρά η νομοθεσία περί ελέγχου Φ.Π., θεωρείται ότι η υγεία των καταναλωτών δεν κινδυνεύει από υπολείμματα στα τρόφιμα. Χώρες δίχως επαρκή εργαστηριακό εξοπλισμό ή χωρίς εξειδικευμένο προσωπικό, ορίζουν χαμηλά ανεκτά όρια υπολειμμάτων και για λόγους ασφαλείας ακολουθούν όσα εφαρμόζουν άλλες χώρες (Τζανακάκης, 1995).

5. ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΙ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΣΕ ΦΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

5.1 Επίδραση των μεταποιητικών διαδικασιών στα υπολείμματα των Φ.Π. στα φυτικά προϊόντα

Το πλύσιμο των φρούτων και των λαχανικών είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό μέσο για την απομάκρυνση των υπολειμμάτων των Φ.Π. που δεν είναι διασυστηματικά και αφήνουν επιφανειακά υπολείμματα. Αντίθετα, οι διασυστηματικές ουσίες απομακρύνονται ελάχιστα έως καθόλου με το πλύσιμο. Υπολείμματα του pyrimicarb και των δυο κύριων καρβαμιδικών μεταβολιτών του σε μαρούλι μειώθηκαν κατά ποσοστό 38-50% με πλύσιμο με κρύο νερό (FAO 1976). Γενικά, από τα υπάρχοντα δεδομένα προκύπτει ότι με το πλύσιμο το ποσοστό μείωσης των υπολειμμάτων κυμαίνεται από 0% (deltamethrin σε σιτάρι) μέχρι και 96% (malathion σε τομάτες) (Λέντζα-Ρίζου, 1997^b).

Επίσης, πολλές ουσίες παραμένουν στο φλοιό. Ιδιαίτερα στα εσπεριδοειδή οι λιποδιαλυτές ουσίες έχουν την τάση να συγκεντρώνονται στα αιθέρια έλαια του φλοιού. Το γεγονός αυτό καθιστά ασφαλέστερο για τον καταναλωτή το εδάδιμο μέρος των καρπών. Πρόβλημα μπορεί να δημιουργηθεί κατά την παρασκευή της μαρμελάδας ή των αιθερίων ελαίων. Σε γενικές γραμμές, τα μη διασυστηματικά Φ.Π. παραμένουν κατά ένα μεγάλο μέρος ή και αποκλειστικά εντοπισμένα στο φλοιό των καρπών ή τα εξωτερικά μέρη των λαχανικών και μπορούν να απομακρυνθούν με αποφλοιώση ή αφαίρεση των εξωτερικών μερών. Αντίθετα, τα διασυστηματικά Φ.Π. διεισδύουν στο εσωτερικό του φλοιού και των ιστών τόσο κατά τους ψεκασμούς του υπέργειου μέρους των φυτών όσο και κατά τις επεμβάσεις από το έδαφος. Οπότε, με την αποφλοιώση απομακρύνονται ελάχιστα υπολείμματα.

Οι Andersson *et al* (1998) ερεύνησαν διάφορους παράγοντες επεξεργασίας όπως το πλύσιμο, το ξεφλούδισμα και η παραγωγή μαρμελάδας των φρούτων. Συμπέραναν, ότι η μείωση από το πλύσιμο ποικίλει ανάλογα με τα Φ.Π. που μελετήθηκαν. Για τα εσπεριδοειδή, περισσότερο από το 90% των υπολειμμάτων Φ.Π. βρεθήκαν στη φλούδα. Για τα μήλα και τα αχλάδια, η έρευνα έδειξε ότι όσο υψηλότερη ήταν η περιεκτικότητα ολόκληρων των φρούτων σε υπολείμματα, τόσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση των υπολειμμάτων στη φλούδα. Η παραγωγή μαρμελάδας των

εσπεριδοειδών (πορτοκάλια, γκρέιπφρουτ και λεμόνια) οδήγησε σε μια μέση μείωση των υπολειμμάτων κατά 62%. Οι Zabik *et al* (2000) παρατήρησαν μια σημαντική μείωση για όλα τα Φ.Π. που μελέτησαν σε επεξεργασμένα μήλα (φέτες, πολτός, χυμός).

Η θερμική επεξεργασία των νωπών γεωργικών προϊόντων προκαλεί σημαντική μείωση των υπολειμμάτων πολλών Φ.Π., ιδιαίτερα αυτών που υδρολύονται σχετικά εύκολα. Πέρα από τη χημική σταθερότητα των μορίων μια άλλη ιδιότητα που επηρεάζει την τύχη των υπολειμμάτων με το βρασμό είναι η υδατοδιαλυτότητά τους. Τα υδατοδιαλυτά εντομοκτόνα dimethoate και ο μεταβολίτης του, omothoate, μειώνονται σε ποσοστό 60-100% με το βρασμό σε φασολάκια, λάχανο, κουνουπίδι, πιπεριές και τομάτες (FAO 1985). Αντίθετα, τα υπολείμματα του ελάχιστα υδατοδιαλυτού flucythrinate, το οποίο επιπλέον έχει την ιδιότητα να προσροφάται ισχυρά στους φυτικούς ιστούς, παραμένουν στα βρασμένα προϊόντα στην ίδια συγκέντρωση που περιείχαν και τα νωπά. Ιδιαίτερα πρέπει να προσεχθούν ορισμένες ουσίες που με το βρασμό μετατρέπονται σε άλλες περισσότερο τοξικές από τα μητρικά μόρια.

Η αποξήρανση είναι μια από τις διαδικασίες που απαιτούν ιδιαίτερη προσοχή όσο αφορά το ύψος των υπολειμμάτων στα τελικά προϊόντα. Στις περισσότερες περιπτώσεις με την αποξήρανση των φρούτων ή των λαχανικών λαμβάνει χώρα αύξηση της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων λόγω απώλειας νερού και μείωσης του βάρους του προϊόντος, ενώ η ποσότητα της ουσίας παραμένει η ίδια.

5.2 Υπολείμματα στην τομάτα και άλλες καλλιέργειες

Η τομάτα αποτελεί μια από τις σημαντικότερες καλλιέργειες και για το λόγο αυτό εφαρμόζονται συνεχώς Φ.Π. ώστε να περιοριστούν οι προσβολές από εχθρούς ή ασθένειες. Στη συνέχεια, αναφέρονται κάποια σημαντικά πειράματα σε καλλιέργεια θερμοκηπιακής τομάτας και άλλων καλλιεργειών.

Οι Arlada-Sarlis *et al.* (1994) πραγματοποίησαν πείραμα σε καλλιέργεια τομάτας υπό κάλυψη με εφαρμογή του procymidone και του propargite, στην Αθήνα για ένα χρόνο. Σκοπός του πειράματος ήταν να μελετηθεί ο ρυθμός μείωσης των υπολειμμάτων των παραπάνω μυκητοκτόνων, να γίνει επανεκτίμηση του χρόνου από την τελευταία εφαρμογή μέχρι τη συγκομιδή και να μελετηθεί η επίδραση των συνεχόμενων εφαρμογών του procymidone στην καλλιέργεια. Βρέθηκε μεγάλη συγκέντρωση υπολειμμάτων του procymidone στους καρπούς, καθώς παρέμενε σταθερό για 28 ημέρες μετά την τελευταία εφαρμογή, μιας και η εφαρμογή έγινε σε

ώριμες τομάτες και σε θερμοκήπιο. Επομένως κρίνεται απαραίτητο να περιοριστεί ο αριθμός των εφαρμογών ή να προσαρμοστεί ο χρόνος από την τελευταία εφαρμογή μέχρι τη συγκομιδή. Αντίθετα, το propargite εμφάνισε μειωμένα επίπεδα υπολειμμάτων, οπότε ο προτεινόμενος χρόνος από την τελευταία εφαρμογή μέχρι τη συγκομιδή παραμένει στις 3 ημέρες.

Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο Κάιρο το 1996, σε καλλιέργειες αγγουριού, τομάτας και πιπεριάς ελέγχθηκε ο χρόνος ημίσειας ζωής των υπολειμμάτων και το προσυλλεκτικό διάστημα επέμβασης για τα: pyrimiphos methyl, malathion, fenitrothion και ένα μίγμα fenpropathrin και pyriproxifen. Ψεκάστηκαν σε συγκεντρώσεις 3.0mL/L, 2.5mL/L, 2.5mL/L, και 4.0mL/L, αντίστοιχα. Ο χρόνος ημίσειας ζωής των υπολειμμάτων στα αγγούρια έδειξε γρήγορη υποβάθμιση όλων εκτός από το μίγμα. Οι τιμές ήταν 2.318, 3.640, 3.640 και 4.326 ημέρες αντίστοιχα για το καθένα. Στις τομάτες ήταν 4.559, 5.457, 6.021 και 6.143 ημέρες και στις πιπεριές 3.960, 5.372, 5.680 και 6.026 ημέρες, αντίστοιχα. Τα μέγιστα όρια υπολειμμάτων έδειξαν ένα προσυλλεκτικό διάστημα για επέμβαση (PHI) δυο εβδομάδες και περισσότερο για το μίγμα και μια εβδομάδα για τα υπόλοιπα τρία, στα αγγούρια. Στις τομάτες 7.85 ημέρες, 3.3 ημέρες, 12 ημέρες και 8.85 ημέρες για τα pyrimiphos methyl, malathion, fenitrothion και το μίγμα fenpropathrin και pyriproxifen, αντίστοιχα. Στις πιπεριές 8.8 ημέρες, 12.75 ημέρες, 14 ημέρες και 6.4 ημέρες, αντίστοιχα (Zidan *et al*, 1996).

Στα παραπάνω προϊόντα εφαρμόστηκαν διάφορες μέθοδοι απολύμανσης και έπειτα αξιολογήθηκαν για την αποτελεσματικότητά τους στην αφαίρεση υπολειμμάτων των εντομοκτόνων. Το πλύσιμο αποδείχθηκε μια πολύ αποτελεσματική μέθοδος για την απολύμανση των αγγουριών. Ένας συνδυασμός αυτής της μεθόδου με το ξεφλούδισμα ή την εφαρμογή 10% NaCl για δύο εβδομάδες οδήγησε σχεδόν στην πλήρη αφαίρεση όλων των υπολειμμάτων. Όσον αφορά τις πιπεριές, το μαγείρεμα των πλυμένων καρπών στον ατμό ή η εφαρμογή NaCl στους άπλυτους καρπούς ήταν πολύ αποτελεσματικές μέθοδοι αφαίρεσης των υπολειμμάτων. Η πλύση των τοματών συνδυασμένη με την αποφλοιώση με καυτό νερό οδήγησε στη μείωση κατά 85.22, 80.32, 82.93 και 76.02% των αρχικών υπολειμμάτων, των pyrimiphos methyl, malathion, fenitrothion και του μίγματος fenpropathrin και pyriproxifen αντίστοιχα. Το πλύσιμο ακολουθούμενο από το μαγείρεμα αύξησε περαιτέρω την αποδοτικότητα της απολύμανσης (Zidan *et al*, 1996).

Οι Torres *et al.* (2002) πραγματοποίησαν πειράματα σε τομάτες, πράσινα φασολάκια, αγγούρι και πιπεριά (υπό κάλυψη καλλιέργειες) με εφαρμογή methamidofos, malathion και methiocarb, με σκοπό να μελετηθεί η υποβάθμιση των παραπάνω ουσιών. Χρησιμοποιήθηκαν έξι θερμοκήπια εκ των οποίων δύο με επίπεδη οροφή για τις τομάτες, δύο με επίπεδη οροφή για τα πράσινα φασολάκια, όπου έγινε εφαρμογή methiocarb και δύο με ασύμμετρη οροφή για αγγούρι και πιπεριά, όπου έγινε εφαρμογή methamidofos και malathion. Προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα: το methamidofos είναι το εντομοκτόνο με τη μεγαλύτερη διάρκεια ζωής (5.3 ημέρες), ενώ το methiocarb με τη μικρότερη διάρκεια ζωής (1.9 έως 2.9 ημέρες). Το methiocarb βρέθηκε ότι αποικοδομείται γρηγορότερα την άνοιξη και ότι οι απώλειές του ήταν μεγαλύτερες στην καλλιέργεια της τομάτας από ότι στα πράσινα φασολάκια. Τα υπολείμματα του malathion μειώνονται ελάχιστα στο αγγούρι και στην πιπεριά.

Οι Garau *et al.* (2002) προσπάθησαν να μελετήσουν τη συμπεριφορά ορισμένων νεοεισαχθέντων στην αγορά μυκητοκτόνων, όπως τα azoxystrobin, cyprodinil, pyrimethanil και fludioxinil με επίπεδα MRL στην Ιταλία, 2.0mg a.i. /Kg, 0.5mg a.i. /Kg, 2.0mg a.i. /Kg και 1.0mg a.i. /Kg αντίστοιχα. Με εφαρμογή των παραπάνω μυκητοκτόνων σε θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας, βρέθηκε ότι μια εβδομάδα μετά την εφαρμογή του cyprodinil τα υπολείμματα ήταν κοντά στο MRL, ενώ τα υπολείμματα του fludioxinil και του azoxystrobin ήταν κάτω από το MRL αμέσως μετά την εφαρμογή. Το pyrimethanil βρέθηκε ότι έχει χρόνο ημίσειας ζωής από 2.8 έως 3.5 ημέρες, ενώ 3 ημέρες μετά την εφαρμογή τα υπολείμματα ήταν κάτω από το MRL. Τα pyrimethanil, azoxystrobin και fludioxinil υφίστανται φωτοδιάσπαση, ενώ το cyprodinil υφίσταται εξάτμιση. Στο χρονικό διάστημα πριν τη συγκομιδή βρέθηκε ότι τα επίπεδα των υπολειμμάτων των pyrimethanil, azoxystrobin και fludioxinil ήταν κοντά στο MRL, ενώ για το cyprodinil προτείνεται να αυξηθεί ο χρόνος πριν τη συγκομιδή κατά 10 ημέρες ή να αυξηθεί το MRL σε 2.0mg/Kg όπως συμβαίνει σε άλλους καρπούς (φράουλα και λάχανο).

Οι Christensen *et al* (2002) ανέπτυξαν και επικύρωσαν μια μέθοδο HPLC-MS/MS για την ανάλυση τριών Φ.Π. στις φράουλες. Οι ανακτήσεις ελέγχθηκαν σε τρία επίπεδα και κυμάνθηκαν από 85 ως 99%. Σε πειράματα αγρού εφαρμόστηκαν τρία μυκητοκτόνα, tolylfluanid, **fenhexamid** και pyrimethanil, και ελέγχθηκαν τα επίπεδα των υπολειμμάτων τους στο πλύσιμο της φράουλας και στην παραγωγή της μαρμελάδας. Το kresoxim-methyl εφαρμόστηκε επίσης στον αγρό, αλλά δεν ανιχνεύθηκε σε κανένα από τα δείγματα που εξετάστηκαν. Η επίδραση των

παραμέτρων, όπως το προσυλλεκτικό διάστημα, η δόση, ο χρόνος συγκομιδής και η συγκέντρωση των Φ.Π. μετά από τη συγκομιδή (αρχική συγκέντρωση, mg/Kg), εξετάστηκαν με προσοχή όσον αφορά την πιθανή μείωση των Φ.Π. Τα αποτελέσματα από το πλύσιμο έδειξαν ότι τα υπολείμματα και των τριών Φ.Π. μειώθηκαν, κατά 37% για το tolylfluanid, κατά 34% για το fenhexamid και κατά 19% για το pyrimethanil. Για τα tolylfluanid και fenhexamid, η αρχική συγκέντρωση είχε σημαντική επίδραση στη μείωση των υπολειμμάτων. Για το fenhexamid, η δόση θα μπορούσε, επίσης, να έχει μια δευτερεύουσα επίδραση στη μείωσή τους. Για το pyrimethanil, καμία από τις ανωτέρω παραμέτρους δεν επηρέασε σημαντικά τη μείωση. Στην παραγωγή μαρμελάδας, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του tolylfluanid κατά 91%. Για το fenhexamid και το pyrimethanil παρατηρήθηκε μια μικρότερη μείωση, 25% και 33%, αντίστοιχα. Η μείωση του tolylfluanid και του pyrimethanil επηρεάστηκε από το προσυλλεκτικό διάστημα, ενώ του fenhexamid από την αρχική συγκέντρωση.

Οι Valverde *et al* (2002) μελέτησαν τα επίπεδα των υπολειμμάτων του pyridaben και του tralomethrin στην πιπεριά, σε έναν πειραματικό θερμοκήπιο, κατά τη διάρκεια μιας περιόδου τεσσάρων εβδομάδων στην οποία εφαρμόστηκαν μέχρι τέσσερις διαδοχικές επεξεργασίες και με τα δύο Φ.Π. Σε όλες τις περιπτώσεις, οι εγκαταστάσεις ψεκάστηκαν με ένα μίγμα pyridaben και tralomethrin με εφαρμογή δραστικής ουσίας 140 και 36gr/ha, αντίστοιχα. Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε 1, 3, 7, 8, 10 ή 14 ημέρες μετά από κάθε εφαρμογή, και μιμείται τις χαρακτηριστικές πρακτικές συγκομιδής στις φυτείες των θερμοκηπίων. Κατά τη διάρκεια της μελέτης, τα επίπεδα των υπολειμμάτων στις πιπεριές κυμαίνονταν μεταξύ 0.04 και 0.22 mg a.i /Kg για το pyridaben και μεταξύ 0.02 και 0.09 mg a.i. /Kg για το tralomethrin, με μέσες τιμές 0.14 και 0.06 mg a.i. /Kg, αντίστοιχα. Αυτές οι τιμές αντιπροσωπεύουν το 28 και 600%, αντίστοιχα, των MRLs της Ισπανίας. Η εφαρμογή πλύσης στα δείγματα των πιπεριών δεν οδήγησε σε σημαντική μείωση του επιπέδου των υπολειμμάτων των Φ.Π.

Με βάση τα αποτελέσματα έρευνας σε επιτραπέζια σταφύλια, βρέθηκε ότι η αποδοτικότητα της διαδικασίας πλύσης των σταφυλιών στη συγκέντρωση των Φ.Π. δεν υπερέβη το 76%. Τα πιο αφαιρούμενα Φ.Π. ήταν το **fenhexamid** και το procymidone. Τα επίπεδα υπολειμμάτων για όλα τα Φ.Π. ήταν κάτω από το MRL για τα επιτραπέζια σταφύλια (Teixeira *et al*, 2003).

Οι Angioni *et al* (2004) προσδιόρισαν τα υπολείμματα των Φ.Π., azoxystrobin, **fenhexamid** και pyrimethanil στη φράουλα σε πειράματα αγρού. Μετά την μεταχείριση, τα υπολείμματα του azoxystrobin και του pyrimethanil στη φράουλα ήταν

κατά μέσον όρο 0.55 και 2.98 mg/Kg, αντίστοιχα, τιμές κάτω από τα MRL_S που καθορίζονται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (2.0 και 5.0mg a.i. /Kg, αντίστοιχα). Τα υπολείμματα του fenhexamid ήταν κατά μέσον όρο 2.99 mg/Kg, τα οποία είναι πολύ κοντά στο MRL 3.0 mg a.i. /Kg, αλλά μερικά δείγματα ήταν και άνω του MRL. Αργότερα, όλα τα υπολείμματα μειωνόταν, με χρόνο ημίσειας ζωής περίπου 8 ημέρες για το azoxystrobin και το fenhexamid και 4.8 ημέρες για το pyrimethanil. Μελετήθηκε επίσης η επίδραση της πλύσης με νερό βρύσης και με ένα εμπορικά διαθέσιμο απορρυπαντικό για λαχανικά, στα επίπεδα των υπολειμμάτων. Το πλύσιμο των φρούτων με νερό βρύσης μείωσε τα υπολείμματα των azoxystrobin και **fenhexamid** αλλά όχι και του pyrimethanil ενώ όταν τα φρούτα πλύθηκαν με το απορρυπαντικό, αφαιρέθηκαν μεγαλύτερα ποσοστά υπολειμμάτων (περίπου 45% του azoxystrobin και pyrimethanil και 60% του fenhexamid).

Σε έρευνα που έγινε στην Ιταλία το 2004 ελέγχθηκαν τα επίπεδα των υπολειμμάτων από 24 Φ.Π. (azoxystrobin, trifloxystrobin, kresoxim-methyl, fenazaquin, indoxacarb, fenothiocarb, furathiocarb, benfuracarb, imidachloprid, dimethomorph, fenpyroximate, hexythiazox, tebufenpyrad, tebufenozide, difeconazole, fenbuconazole, flusilazole, paclobutrazol, tebuconazole, tetraconazole, bromuconazole, etofenprox, **fenhexamid**) σε πουρέ μήλων, σε συμπυκνωμένο χυμό λεμονιών και σε πολτό τοματών. Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν, κανένα από τα δείγματα δεν περιείχε τα υπολείμματα σε συγκέντρωση μεγαλύτερη από 0.010 mg/Kg (Sannino *et al*, 2004).

Οι Kontou *et al* (2004) μελέτησαν την επίδραση της αποθήκευσης στους 5°C, της θερμικής επεξεργασίας με το μαγείρεμα στους 100 °C και της αποστείρωσης στους 121°C για 15 λεπτά, στην υποβάθμιση των υπολειμμάτων του maneb σε ομογενοποιημένες τομάτες. Τα υπολείμματα του maneb και του τοξικού του μεταβολίτη ethylenethiourea (ETU) ελέγχθηκαν μετά από κάθε επεξεργασία με τη χρήση αέριας χρωματογραφίας και από υψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία. Έτσι, με βάση τα αποτελέσματα, δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική μείωση του maneb κατά τη διάρκεια της κρύας αποθήκευσης μέχρι και έξι εβδομάδες. Αντιθέτως, η θερμική επεξεργασία οδήγησε στην ουσιαστική υποβάθμιση του maneb με την εκτενή μετατροπή του σε ETU. Μετά το μαγείρεμα μόνο 26% των αρχικών υπολειμμάτων του maneb παρέμειναν στα δείγματα, ενώ η μετατροπή τους σε ETU ήταν 28%. Η αποστείρωση που εξάλειψε τα υπολείμματα του maneb προκάλεσε τη μετατροπή του σε ETU μέχρι 32%.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

6.1 Γενικά

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στο Αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας σε υπαίθριες καλλιέργειες τομάτας, πιπεριάς και μελιτζάνας, καθώς και σε θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας. Στις υπαίθριες καλλιέργειες της πιπεριάς και της μελιτζάνας πραγματοποιήθηκαν εφαρμογές με το εντομοκτόνο ρυγίροxyfen και στη θερμοκηπιακή και υπαίθρια καλλιέργεια της τομάτας με το εντομοκτόνο ρυγίροxyfen και το μυκητοκτόνο fenhexamid.

Σκοπός αυτής της εργασίας ήταν

- α) η ανάπτυξη και αξιολόγηση μιας αναλυτικής μεθοδολογίας για τον έλεγχο των υπολειμμάτων του ρυγίροxyfen σε λαχανικά
- β) η παρακολούθηση της υποβάθμισης των υπολειμμάτων του ρυγίροxyfen στους καρπούς της τομάτας, της πιπεριάς και της μελιτζάνας σε πείραμα αγρού στις κλιματολογικές συνθήκες της χώρας μας και
- γ) η αξιολόγηση της επίδρασης της πλύσης των καρπών στο υπολειμματικό φορτίο παρασιτοκτόνων, σε αυτούς.

Το ρυγίροxyfen είναι ένα σύγχρονο εντομοκτόνο που χρησιμοποιείται συχνά στην Ελλάδα στις κηπευτικές καλλιέργειες τόσο σε υπαίθριες όσο και σε υπό κάλυψη για την αντιμετώπιση προσβολών από αλευρώδη. Πληροφορίες σχετικά με τη συμπεριφορά του ρυγίροxyfen στους καρπούς των κηπευτικών καλλιεργειών σπανίζουν στη διεθνή βιβλιογραφία, ενώ απουσιάζουν στοιχεία για την υποβάθμισή του σε κηπευτικές καλλιέργειες στον ελλαδικό χώρο. Επίσης κρίθηκε ιδιαίτερα ενδιαφέρον να μελετηθεί μια συνήθης οικιακή διαδικασία, όπως είναι αυτή της πλύσης των λαχανικών, ως προς την επίδρασή της στη μείωση του υπολειμματικού φορτίου του ρυγίροxyfen που είναι ένα σχετικά λιπόφιλο μόριο με $\log K_{ow}$ 5.37.

Για λόγους προστασίας της καλλιέργειας της τομάτας από ασθένειες αποφασίστηκε η εφαρμογή και ενός μυκητοκτόνου και επιλέχτηκε ένα σύγχρονο και σχετικά υδατοδιαλυτό μόριο, το fenhexamid. Ειδικά, λοιπόν, για την τομάτα, αποφασίστηκε η επιπλέον παρακολούθηση τόσο στο πείραμα αγρού όσο και στο πείραμα της πλύσης της πορείας και των υπολειμμάτων του fenhexamid ($\log K_{ow}$ 3.51).

Η παρακολούθηση της πορείας των υπολειμμάτων στα πειράματα αγρού έγινε με ανάλυση δειγμάτων καρπών, που λαμβάνονταν σε τακτές ημερομηνίες μετά την εφαρμογή των φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων στο φυτικό ιστό των καρπών αναπτύχθηκε και ελέγχθηκε αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού των υπολειμμάτων *pyriprooxyfen* και *fenhexamid* στα υπό μελέτη υποστρώματα τομάτας, μελιτζάνας και πιπεριάς με αέρια χρωματογραφία Gas Chromatography με ανιχνευτή αζώτου φωσφόρου (Gas Chromatography – nitrogen phosphorus Detector, GC-NPD) και τα ευρήματα επιβεβαιώθηκαν με σύζευξη αέριας χρωματογραφίας με φασματομετρία μάζας (Gas Chromatography-Mass spectrometry, GC-MS).

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 13.

6.2 Οι καλλιέργειες του πειράματος

Οι καλλιέργειες εγκαταστάθηκαν την άνοιξη του 2005 και το πείραμα πραγματοποιήθηκε την περίοδο Ιουλίου Αυγούστου, όταν τα φυτά ήταν πλήρως παραγωγικά. Κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου εφαρμόστηκαν όλες οι καλλιεργητικές πρακτικές που κρίνονται απαραίτητες για την ομαλή ανάπτυξη των καλλιεργειών, όπως κλάδεμα, πότισμα, λίπανση κ.τ.λ. Κάθε καλλιέργεια χωρίστηκε σε τέσσερα πειραματικά τεμάχια (blocks). Τα τρία από τα blocks (τρεις επαναλήψεις) δέχθηκαν τις προγραμματισμένες από το πείραμα επεμβάσεις με τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα, ενώ το τέταρτο έμεινε ασφέκαστο και χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας.

Το θερμοκήπιο στο οποίο καλλιεργήθηκε η τομάτα στο Αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στο Βελεστίνο είναι αμφίρρικτο απλό με συνολική έκταση 200m² και το υλικό κάλυψής του είναι γυαλί. Ο αερισμός είναι φυσικός και γίνεται με πλαϊνά παράθυρα. Η ψύξη του θερμοκηπίου γίνεται με cooling system.

Τα φυτά της τομάτας, ποικιλίας *Belladonna*, μεταφυτεύθηκαν στο θερμοκήπιο στο στάδιο των 6-8 πραγματικών φύλλων, όταν η ταξιανθία ήταν εμφανής όχι όμως ανοιχτή. Στο έδαφος εγκαταστάθηκαν οκτώ σειρές φυτών, όπου η κάθε σειρά περιελάμβανε 30 φυτά. Οι αποστάσεις μεταξύ των γραμμών ήταν 1.00m και μεταξύ των φυτών επί της γραμμής 0.50m. Χρησιμοποιήθηκαν τέσσερα πειραματικά τεμάχια (blocks) των 40 φυτών το κάθε ένα. Το σχέδιο φύτευσης της τομάτας στον αγρό και τα blocks ήταν ακριβώς τα ίδια με του θερμοκηπίου.

Η ποικιλία της πιπεριάς που καλλιεργήθηκε ήταν τύπου «κέρατο», *Diabolo P-311*. Η μεταφύτευσή της στον αγρό έγινε στο στάδιο των 6-8 πραγματικών φύλλων, όταν ο πρώτος ανθοφόρος οφθαλμός ήταν μόλις ορατός στην κορυφή του φυτού. Εγκαταστάθηκαν δέκα σειρές φυτών από 15 φυτά στην κάθε σειρά. Η μέθοδος της φύτευσης που εφαρμόστηκε ήταν με τις διπλές γραμμές κατά ζεύγη, δηλαδή τη διάταξη: διάδρομος, διπλή γραμμή, διάδρομος, κ.ο.κ. Κατά τη μέθοδο αυτή το πλάτος του διαδρόμου ήταν 1.00m, η απόσταση μεταξύ των διπλών γραμμών φύτευσης τα 0.50m και οι απόσταση μεταξύ των φυτών επί της γραμμής τα 0.50m. Χρησιμοποιήθηκαν τέσσερα blocks των 22 φυτών το καθένα.

Η μελιτζάνα που καλλιεργήθηκε για τις απαιτήσεις του πειράματος ήταν της ποικιλίας *Τσακωνική*. Η μεταφύτευσή της έγινε στο στάδιο των τεσσάρων περίπου πραγματικών φύλλων, όταν το φυτό είχε ύψος περίπου 15cm. Το σχέδιο φύτευσης είχε ως εξής: δέκα σειρές φυτών όπου η κάθε σειρά περιελάμβανε 20 φυτά. Οι αποστάσεις φύτευσης μεταξύ των γραμμών ήταν 1.00m και οι αποστάσεις μεταξύ των φυτών επί της γραμμής φύτευσης τα 0.60m. Χρησιμοποιήθηκαν τέσσερα blocks των 32 φυτών το καθένα.

Σε όλες τις καλλιέργειες δεν έγινε χρήση των ακριανών σειρών κατά τη δειγματοληψία.

6.3 Φυτοπροστατευτικά προϊόντα και οι εφαρμογές τους στις καλλιέργειες

Τα εμπορικά σκευάσματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τον ψεκασμό των καλλιεργειών ήταν τα ακόλουθα:

- Το **Admiral 10EC**, το οποίο περιέχει 10% δραστική ουσία pyriproxyfen υπό μορφή γαλακτοποιήσιμου πυκνού εναιωρήματος. Ο ψεκασμός έγινε με υδατικό εναιώρημα του παραπάνω σκευάσματος με δόση 50mL/100L νερού σε όλες τις καλλιέργειες.
- Το **Teldor 50WG**, το οποίο περιέχει 50% δραστική ουσία fenhexamid υπό μορφή βρέξιμων κόκκων. Ο ψεκασμός έγινε με υδατικό εναιώρημα του παραπάνω σκευάσματος με δόση 150gr/100L νερού.

Οι ψεκασμοί πραγματοποιήθηκαν με ψεκαστήρα πλάτης και έγινε ψεκασμός των φυτών μέχρι απορροής. Πρέπει να σημειωθεί ότι κατά τον ψεκασμό σε όλες τις

καλλιέργειες τα φυτά του μάρτυρα καλύφθηκαν με πλαστικό, ώστε να μην έχουμε επιμόλυνση τους με τα ψεκάσθέντα Φ.Π.

Στις 14/7/2006 πραγματοποιήθηκε ο πρώτος ψεκασμός στην καλλιέργεια της τομάτας στο θερμοκήπιο και δέκα ημέρες αργότερα, στις 24/7/2006 ο δεύτερος. Ο πρώτος ψεκασμός στην υπαίθρια καλλιέργεια της πιπεριάς έγινε στις 15/7/2006 και δέκα ημέρες αργότερα, ο δεύτερος στις 25/7/2006. Στην υπαίθρια καλλιέργεια της μελιτζάνας η πρώτη εφαρμογή πραγματοποιήθηκε στις 15/7/2006 και οκτώ ημέρες αργότερα, η δεύτερη στις 23/7/2006. Τέλος, στην υπαίθρια καλλιέργεια της τομάτας η πρώτη εφαρμογή των φυτοπροστατευτικών προϊόντων πραγματοποιήθηκε στις 8/8/2006 και η δεύτερη επτά ημέρες αργότερα, στις 15/8/2006.

6.4 Δειγματοληψίες και προετοιμασία των δειγμάτων για ανάλυση

Στην περίπτωση των καρπών της τομάτας, σε κάθε ημερομηνία δειγματοληψίας συλλέχθηκαν τρία δείγματα, ένα από κάθε επανάληψη (τρεις επαναλήψεις). Το κάθε δείγμα περιλάμβανε 12 καρπούς τομάτας και οι συλλεχθέντες καρποί είχαν πάρει το τελικό μέγεθός τους καθόσον βρίσκονταν είτε στο στάδιο του γαλανίσματος, είτε σε εμπορική, είτε σε πλήρη ωρίμανση. Στην περίπτωση των πειραμάτων επίδρασης της πλύσης ελήφθησαν από κάθε block δύο δείγματα καρπών τομάτας. Το ένα χρησιμοποιήθηκε για την παρακολούθηση της πορείας των υπολειμμάτων και το άλλο ακολούθησε τη διεργασία πλύσης και ακολούθως αναλύθηκε για το υπολειμματικό φορτίο που παρέμεινε. Διπλά δείγματα τομάτας ελήφθησαν στις 20 και 27/7/2006 από τη θερμοκηπιακή καλλιέργεια και στις 11/8/2005 από την υπαίθρια καλλιέργεια.

Κατά τον ίδιο τρόπο με τη δειγματοληψία των τοματών έγινε και η δειγματοληψία των πιπεριών. Το κάθε δείγμα ζύγιζε τουλάχιστον 1.00Kg. Στις δειγματοληψίες στις 20/7/2005 και 22/7/2005 ελήφθησαν διπλά δείγματα, διότι έγινε και το πείραμα της επίδρασης της πλύσης των καρπών πιπεριάς.

Τέλος, για τη δειγματοληψία των μελιτζανών ισχύει ο ίδιος τρόπος με αυτόν των δύο άλλων κηπευτικών. Το κάθε δείγμα ζύγιζε περίπου 2.00Kg και περιελάμβανε 8-10 ώριμους καρπούς (απορρίπτονταν οι υπερώριμοι και υπερμεγέθεις καρποί). Δειγματοληψία για το πείραμα της επίδρασης της πλύσης στους καρπούς μελιτζάνας πραγματοποιήθηκε στις 25/7/2005 και 27/7/2005. Σε όλες τις καλλιέργειες δεν έγινε χρήση των ακριανών σειρών κατά τη δειγματοληψία.

Τα συλλεχθέντα δείγματα (αρχικό δείγμα) καρπών τομάτας, πιπεριάς και μελιτζάνας, μεταφέρονταν στο εργαστήριο, όπου ακολουθούσε ζύγιση, καταγραφή των μεγέθους, μείωση του αρχικού δείγματος σε εργαστηριακό δείγμα με τη μέθοδο των τεταρτημορίων, τεμαχισμός, και ομογενοποίηση με κοινό blender. Στη συνέχεια, μέρος από το ομογενοποιημένο εργαστηριακό δείγμα (περίπου 200gr) μεταφέρονταν σε αποστειρωμένα σακουλάκια (αναλυτικό δείγμα), αναγράφονταν τα στοιχεία του δείγματος και φυλάσσονταν στην κατάψυξη στους -22°C. Πρέπει να σημειωθεί ότι από όλους τους καρπούς πριν από την ομογενοποίησή τους γινόταν αφαίρεση των ποδίσκων συγκράτησής τους στο φυτό.

Οι καρποί που προοριζόταν για το πείραμα της επίδρασης της πλύσης, μετά τη ζύγιση, τοποθετούνταν σε λεκάνη με νερό σε θερμοκρασία περιβάλλοντος όπου παρέμεναν για δέκα λεπτά. Ακολούθως, το νερό ανανεώνονταν και οι καρποί παρέμεναν καλά βυθισμένοι για ακόμη δέκα λεπτά. Στη συνέχεια αφήνονταν να στεγνώσουν και σκουπίζονταν προσεκτικά όπου χρειαζόταν με απορροφητικό χαρτί και ακολουθούσε η διαδικασία προετοιμασίας των εργαστηριακών και αναλυτικών δειγμάτων όπως περιγράφηκε παραπάνω.

Η δειγματοληψία, η μεταφορά των δειγμάτων στο εργαστήριο, ο τεμαχισμός, η ομογενοποίηση και η αποθήκευση των αναλυτικών δειγμάτων γινόταν σε χρονικό διάστημα μιας ημέρας. Τα δείγματα αναλύθηκαν την ίδια ημέρα που έγινε η συλλογή και ομογενοποίησή τους.

6.5 Διαλύτες και διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν

- **Διαλύτες.** Κυκλοεξάνιο και μεθανόλη τύπου pestiscan.
- **Πρότυπες ουσίες:** pyriproxyfen (καθαρότητας 99.3%) και fenhexamid (καθαρότητας 99.1%) της εταιρείας Dr Ehrenstorfer, Augsburg, Γερμανία.
- **Πρότυπα διαλύματα** των παραπάνω ουσιών. Παρασκευάστηκαν μητρικά πρότυπα διαλύματα σε μεθανόλη 1000 µg/mL και από αυτά παρασκευάστηκαν τα διαλύματα εργασίας σε μεθανόλη και τα πρότυπα διαλύματα σε κυκλοεξάνιο, με αραιώση.

Συγκεκριμένα από το μητρικό πρότυπο του pyriproxyfen παρασκευάστηκε πρότυπο διάλυμα 50 µg/mL σε κυκλοεξάνιο, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την

παρασκευή των πρότυπων διαλυμάτων μικρότερης συγκέντρωσης (2.00 µg/mL, 1.6 µg/mL, 1.00 µg/mL, 0.60 µg/mL, 0.40 µg/mL, 0.20 µg/mL και 0.10 µg/mL) για τη βαθμονόμηση του χρωματογραφικού σήματος. Επίσης από το μητρικό πρότυπο διάλυμα του pyriproxyfen παρασκευάστηκε και πρότυπο διάλυμα εργασίας συγκέντρωσης 10 µg/mL σε μεθανόλη για τη φόρτιση των δειγμάτων μάρτυρα στα πειράματα ανάκτησης.

Επίσης, παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα σε εκχύλισμα υποστρώματος καρπών της κάθε καλλιέργειας (τομάτες, πιπεριές, μελιτζάνες) για να ελέγξουμε το φαινόμενο της «επίδρασης του υποστρώματος» στη χρωματογραφική ανάλυση. Παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα συγκέντρωσης 2.00 µg/mL, 1.60 µg/mL, 1.00 µg/mL, 0.60 µg/mL, 0.40 µg/mL, 0.20 µg/mL και 0.10 µg/mL σε τρεις σειρές, μία για το κάθε υπόστρωμα.

Για τα πειράματα των ανακτήσεων χρησιμοποιήθηκαν δείγματα μάρτυρα τομάτας πιπεριάς και μελιτζάνας, τα οποία φορτίστηκαν με την κατάλληλη ποσότητα πρότυπου διαλύματος εργασίας. Οι φορτίσεις έγιναν με τόση ποσότητα έτσι ώστε να αντιστοιχούν σε συγκεντρώσεις 0.03mg a.i./Kg, 0.10mg a.i./Kg και 0.50mg a.i./Kg και 1.00mg a.i./Kg. Κάθε φόρτιση πραγματοποιήθηκε εις τριπλού (τρεις επαναλήψεις) .

6.6 Εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε

Ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε ήταν:

- ✓ **Ηλεκτρική συσκευή blender** για την κοπή και πολτοποίηση των φυτικών ιστών.
- ✓ **Ομογενοποιητής Ultra Turax**, στην εκχύλιση των φυτικών ιστών.
- ✓ **Φυγόκεντρος**, στη φυγοκέντριση των εκχυλισμάτων.
- ✓ **Περιστρεφόμενος εξατμιστήρας R 114** της BUCHI.
- ✓ **Συσκευή συμπύκνωσης** με ρεύμα αζώτου στην ξήρανση.
- ✓ **Αέριος χρωματογράφος με ανιχνευτή NPD.**

Για την ανίχνευση των pyriproxyfen και fenhexamid, στα τελικά εκχυλίσματα των δειγμάτων των καρπών χρησιμοποιήθηκε το σύστημα της αέριας χρωματογραφίας τύπου Hewlett-Packard 6890 με ανιχνευτή αζώτου-φωσφόρου (NPD) και χρωματογραφική στήλη (25m x 0,22mm) τύπου BPX-35. Η καταγραφή και επεξεργασία του χρωματογραφικού σήματος έγινε σε H/Y με το πρόγραμμα Chem Station. Οι συνθήκες λειτουργίας του οργάνου ήταν οι ακόλουθες:

- Εγχυτής δείγματος σε λειτουργία «pulsed splitless».
- Θερμοκρασία εγχυτή 250°C.
- Όγκος έγχυσης δείγματος 2μL.
- Θερμοκρασία ανιχνευτή 310°C
- Αέρια ανιχνευτή: H₂ (3mL/min), Air (60mL/min), make up He (5mL/min)
- Φέρον αέριο ήλιο, με ροή 1.5mL/min.
- Θερμοκρασιακό πρόγραμμα ανάλυσης: αρχική θερμοκρασία φούρνου 60°C (διατήρησή της για 1.2min). Αύξηση με ρυθμό 14°C/min μέχρι τους 220°C, αύξηση με ρυθμό 30°C/min μέχρι τους 280°C.

✓ Φασματογράφος μάζας

Για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε ένα σύστημα αέριας χρωματογραφίας Thermo Quest TRACE 2000 εφοδιασμένο με DB-5ms τριχοειδή στήλη (πάχους 0.25 μm και 30m x 0.25mm i.d) συνδεδεμένο με ένα GCQ plus φασματομέτρο μάζας με παγίδα ιόντων και εξοπλισμένο με το λογισμικό Xcalibur 1.1. Ο εγχυτήρας ρυθμίστηκε σε θερμοκρασία 230°C και το δείγμα (1.00 μL) εγχύθηκε με εγχυτή τύπου splitless (χρόνος 1min). Ο φούρνος ήταν προγραμματισμένος ως εξής: 70°C (1min), αύξηση της θερμοκρασίας σε 180°C (30°C/min), έπειτα σε 190°C (1.5°C/min) και τελικά σε 310°C (3°C/min) για χρονικό διάστημα πέντε λεπτών.. Η πηγή ιονισμού (EI, σε 70eV) ρυθμίστηκε στους 200°C και η γραμμή μεταφοράς στους 275°C, ενώ η καταγραφή ιόντων γινόταν για m/z 45-500.

6.7 Διαδικασία εκχύλισης δειγμάτων

Για την ανάλυση των δειγμάτων της τομάτας, για τον προσδιορισμό των pyriproxifen και fenhexamid, και της πιπεριάς, για τον προσδιορισμό του pyriproxifen, ακολουθήθηκε η παρακάτω πορεία προετοιμασίας του δείγματος στα πλαίσια της αναλυτικής μεθοδολογίας προσδιορισμού υπολειμμάτων.

- ✓ Ζύγιση 10gr ιστού ομογενοποιημένου δείγματος καρπών μέσα σε γυάλινο σωλήνα φυγοκέντρωσης.
- ✓ Προσθήκη 10mL κυκλοεξανίου και ομογενοποίηση σε Ultra Turax (8000στρ./min) για 30sec.
- ✓ Φυγοκέντρωση των σωλήνων για 5min.
- ✓ Λήψη 3mL εκχυλίσματος και μεταφορά τους σε σφαιρική φιάλη των 10mL.

- ✓ Συμπύκνωση μέχρι ξηρού σε περιστρεφόμενο εξατμιστήρα υπό μειωμένη πίεση και σε 35°C.
- ✓ Προσθήκη 1mL κυκλοεξανίου, ανακίνηση και μεταφορά του τελικού εκχυλίσματος σε φιαλίδια χρωματογραφίας.

Για την ανάλυση των δειγμάτων της μελιτζάνας, για τον προσδιορισμό του pygiproxyfen, ακολουθήθηκε η παρακάτω πορεία αναλυτικής μεθόδου προσδιορισμού υπολειμμάτων.

- ✓ Ζύγιση 5gr ιστού ομογενοποιημένου δείγματος μελιτζάνας μέσα σε γυάλινο φυγοκεντρικό σωλήνα.
- ✓ Προσθήκη 15mL κυκλοεξανίου και ομογενοποίηση σε Ultra Turax (8000στρ./min) για 30sec.
- ✓ Φυγοκέντρηση των σωλήνων για 5min.
- ✓ Λήψη 10mL εκχυλίσματος και μεταφορά τους σε σφαιρική φιάλη των 25mL.
- ✓ Συμπύκνωση μέχρι ξηρού σε περιστρεφόμενο εξατμιστήρα υπό μειωμένη πίεση και σε 35°C.
- ✓ Προσθήκη 1mL κυκλοεξανίου και μεταφορά του τελικού εκχυλίσματος σε φιαλίδια χρωματογραφίας.

7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

7.1 Ποιοτική ανάλυση

Η ταυτοποίηση του pyriproxyfen και του fenhexamid στα χρωματογραφήματα του συστήματος GC-NPD έγινε με βάση το χρόνο κατακράτησής τους. Οι χρόνοι κατακράτησης των παρασιτοκτόνων της μελέτης με τις εφαρμοζόμενες χρωματογραφικές συνθήκες είναι 9.53 και 10.65 min για το fenhexamid και το pyriproxyfen, αντίστοιχα (Εικόνα 13).

Τα δείγματα του μάρτυρα, όπως ήταν αναμενόμενο, δεν εμφάνισαν κορυφές στους χρόνους κατακράτησης των κορυφών των παραπάνω δραστικών ουσιών και ως εκ τούτου δεν παρουσιάστηκε δυσκολία στην επεξεργασία των χρωματογραφημάτων.

7.2 Ποσοτικός προσδιορισμός

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης του pyriproxyfen στα δείγματα έγινε με την τεχνική του εξωτερικού προτύπου με τη χρήση καμπύλης αναφοράς. Κατασκευάστηκαν οι καμπύλες αναφοράς για πρότυπα διαλύματα σε κυκλοεξάνιο και για πρότυπα διαλύματα σε εκχύλισμα του κάθε υποστρώματος και μελετήθηκαν η γραμμικότητα του ανιχνευτή και η επίδραση του κάθε υποστρώματος.

Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης των παρασιτοκτόνων στα δείγματα καρπών χρησιμοποιήσαμε την ακόλουθη εξίσωση:

$$C_s = C_i / F_c$$

Όπου:

C_{sample} : η συγκέντρωση στο υπόστρωμα του δείγματος (mg/ Kg)

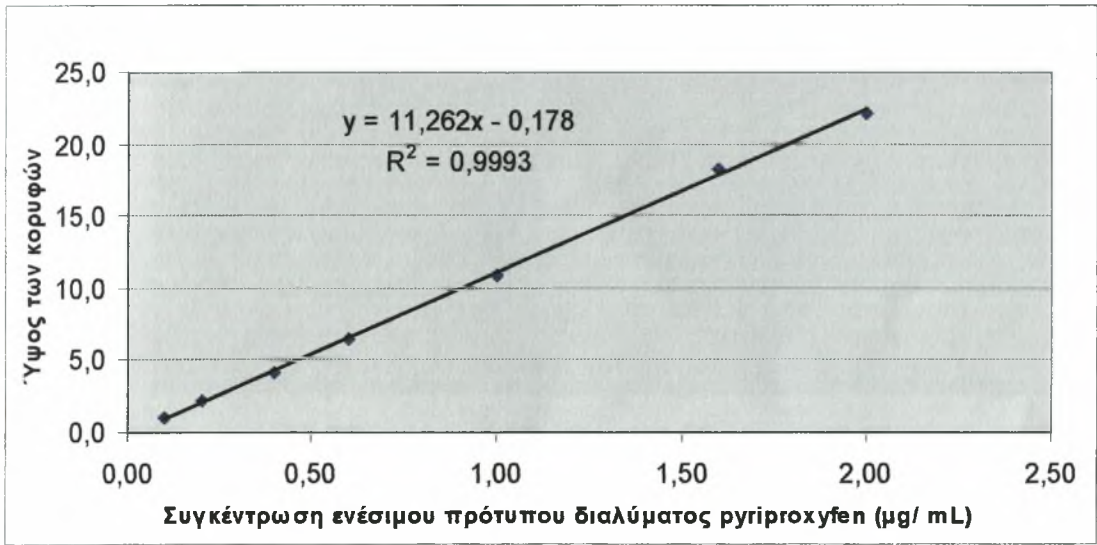
$C_{\text{injection}}$: η συγκέντρωση (μg/mL) σε δραστική ουσία παρασιτοκτόνου στο ενέσιμο διάλυμα, όπως προκύπτει από την καμπύλη αναφοράς ($H = a C_i + b$), δηλαδή $C_i = [(H - b) / a]$, όπου H το ύψος της χρωματογραφικής κορυφής, a η κλίση της καμπύλης.

F_c : ο συντελεστής συμπίκνωσης του υποστρώματος, ο οποίος είναι 3 (gr/mL) για την τομάτα και την πιπεριά και 3.3 (gr/mL) για τη μελιτζάνα.

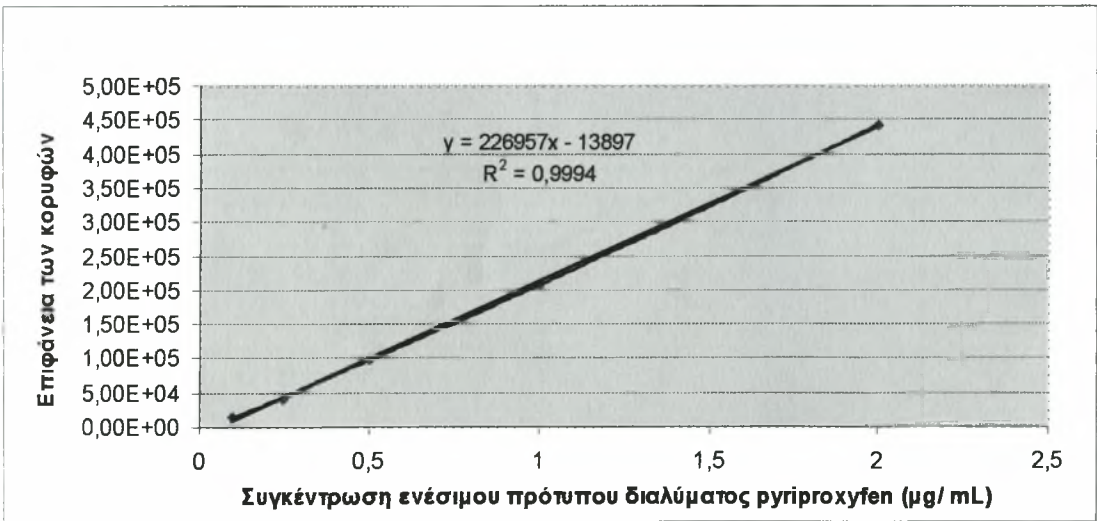
Για την ποσοτικοποίηση των χρωματογραφικών κορυφών χρησιμοποιήθηκαν οι καμπύλες αναφοράς των προτύπων διαλυμάτων σε εκχύλισμα υποστρώματος (παρ. 7.3).

7.3 Πρότυπες καμπύλες – Επίδραση υποστρώματος

Στις Εικόνες 7 και 8 παρουσιάζονται τα γραφήματα των καμπυλών αναφοράς (βαθμονόμησης), του pyriproxifen με χρήση προτύπων διαλυμάτων σε διαλύτη για το σύστημα GC-NPD και GC-MS, αντίστοιχα. Επίσης στις εικόνες παρουσιάζονται και οι εξισώσεις συσχέτισης του χρωματογραφικού σήματος με την ενέσιμη συγκέντρωση καθώς και ο συντελεστής συσχέτισης R^2 όπως προέκυψαν από την επεξεργασία των αποκρίσεων με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων.

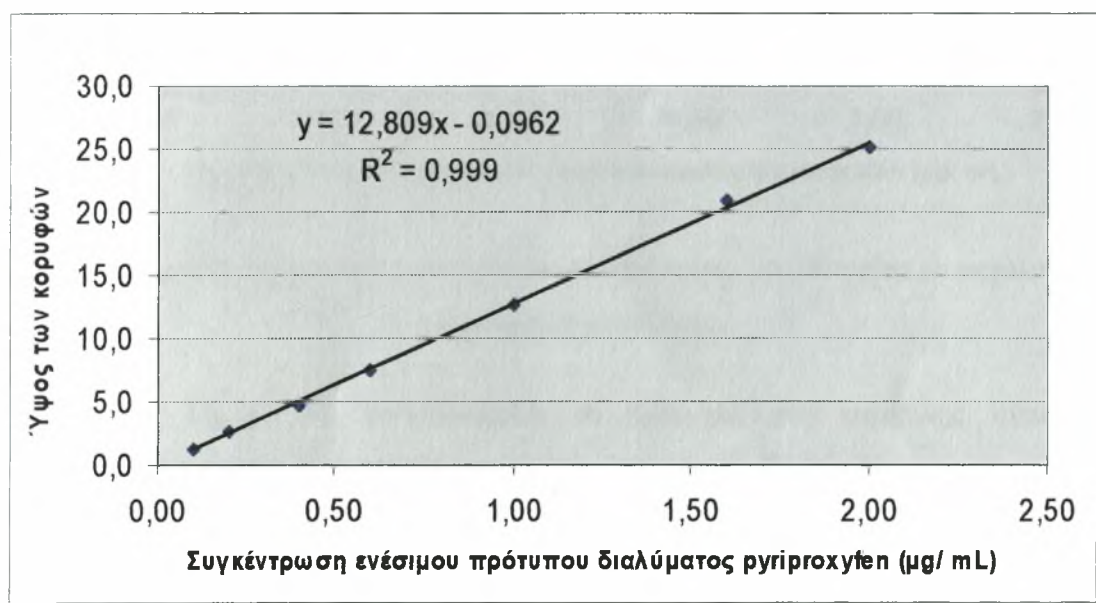


Εικόνα 7: Καμπύλη αναφοράς του συστήματος GC-NPD για πρότυπα διαλύματα pyriproxifen σε καθαρό διαλύτη

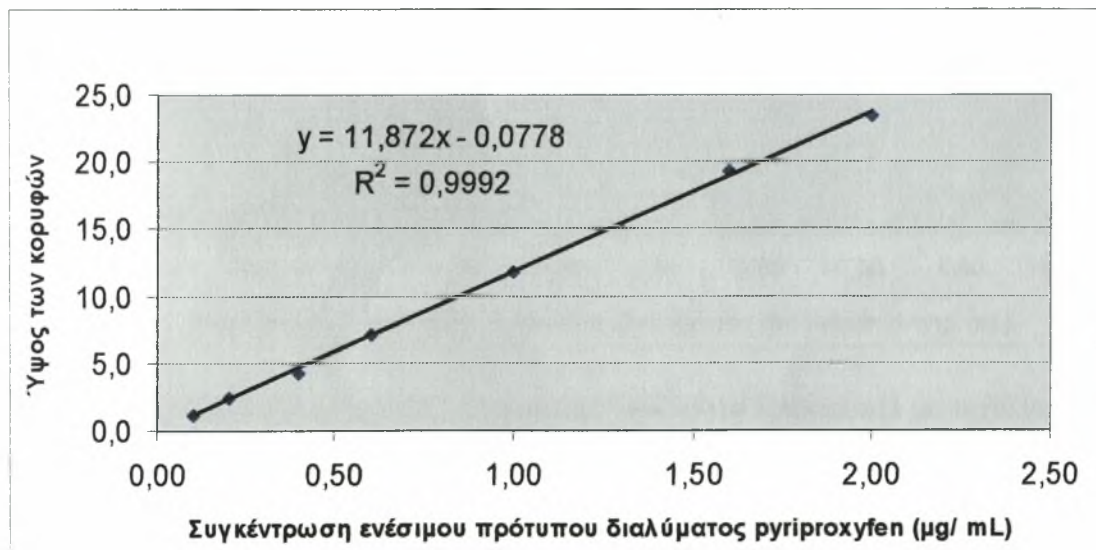


Εικόνα 8: Καμπύλη αναφοράς του συστήματος GC-MS για πρότυπα διαλύματα pyriproxifen σε καθαρό διαλύτη

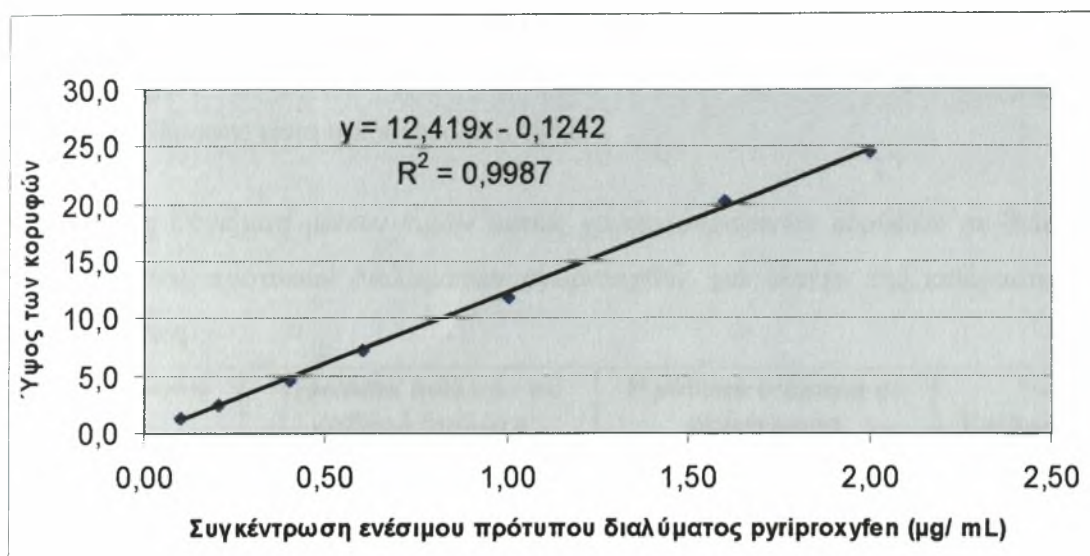
Στις Εικόνες 9, 10 και 11 παρουσιάζονται τα γραφήματα των καμπυλών αναφοράς (βαθμονόμησης), του pyriproxyfen με χρήση προτύπων διαλυμάτων σε εκχύλισμα υποστρώματος τομάτας, πιπεριάς και μελιτζάνας αντίστοιχα για το σύστημα GC-NPD. Οι αποκρίσεις παρουσιάζουν γραμμικότητα στην περιοχή συγκεντρώσεων μελέτης του pyriproxyfen με πολύ καλές τιμές συντελεστών συσχέτισης, όπως εμφανίζονται στις αντίστοιχες εικόνες.



Εικόνα 9: Καμπύλη αναφοράς πρότυπων διαλυμάτων pyriproxyfen με εκχύλισμα υποστρώματος τομάτας

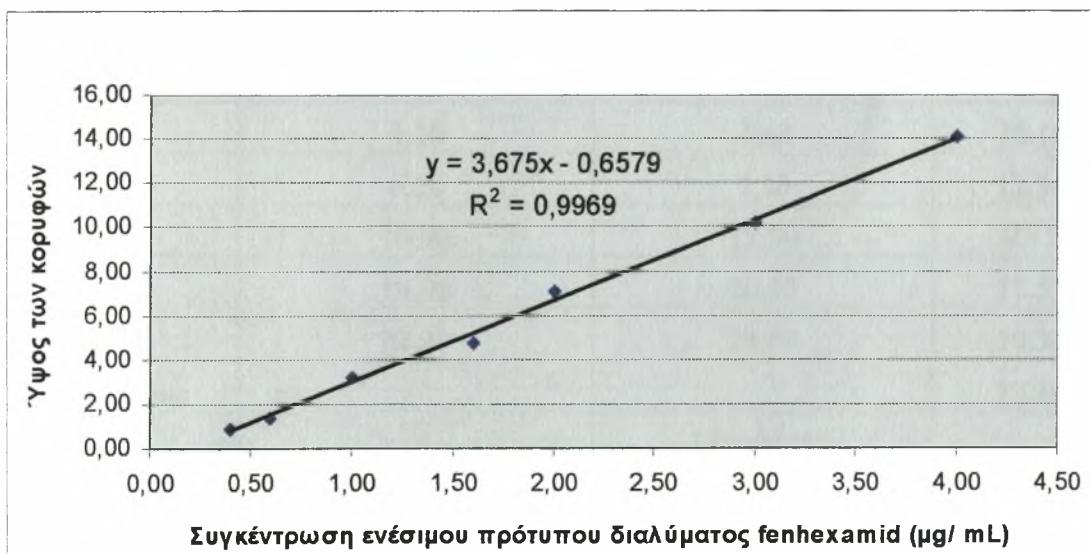


Εικόνα 10: Καμπύλη αναφοράς πρότυπων διαλυμάτων pyriproxyfen με εκχύλισμα υποστρώματος πιπεριάς



Εικόνα 11: Καμπύλη αναφοράς για πρότυπα διαλύματα pyriproxyfen με εκχύλισμα υποστρώματος μελιτζάνας.

Στην Εικόνα 12 παρουσιάζεται το γράφημα της καμπύλης αναφοράς (βαθμονόμησης) του fenhexamid με χρήση προτύπων διαλυμάτων σε εκχύλισμα υποστρώματος τομάτας για το σύστημα GC-NPD.



Εικόνα 12: Καμπύλη αναφοράς για πρότυπα διαλύματα fenhexamid με εκχύλισμα υποστρώματος τομάτας

Η αξιολόγηση των αναλυτικών μεθοδολογιών έγινε με πρότυπα διαλύματα σε υπόστρωμα για να ελέγξουμε εάν έχουμε επίδραση του υποστρώματος στη συγκέντρωση του σκευάσματος. Από τα αποτελέσματα που λάβαμε από την ανάλυση

των δειγμάτων (Πίνακας 3) προκύπτει ότι δεν έχουμε επίδραση του υποστρώματος της τομάτας, της πιπεριάς και της μελιτζάνας σε κανένα από τα δείγματα, καθώς τα ποσοστά επίδρασης είναι μικρότερα του 18%.

Πίνακας 3: Σύγκριση μέσων τιμών ύψους χρωματογραφικών κορυφών σε διάφορες συγκεντρώσεις πρότυπων διαλυμάτων rygiproxyfen, για έλεγχο της επίδρασης του υποστρώματος.

Συγκέντρωση (w/v)	Πρότυπο διάλυμα σε καθαρό διαλύτη	Πρότυπο διάλυμα σε υπόστρωμα	% Επίδρασης
		Τομάτα	
0.10	1.10	1.30	18.18
0.20	2.20	2.60	18.18
0.40	4.10	4.70	14.63
0.60	6.50	7.50	15.38
1.00	10.90	12.70	16.51
1.60	18.20	20.90	14.83
2.00	22.20	25.20	13.51
Μέσος όρος			15.88
		Μελιτζάνα	
0.10	1.10	1.30	18.18
0.20	2.20	2.50	13.63
0.40	4.10	4.60	12.19
0.60	6.50	7.30	12.30
1.00	10.90	11.90	9.17
1.60	18.20	20.30	11.53
2.00	22.20	24.50	10.36
Μέσος όρος			12.34
		Πιπεριά	
0.10	1.10	1.20	9.09
0.20	2.20	2.40	9.09
0.40	4.10	4.30	4.87
0.60	6.50	7.10	9.23
1.00	10.90	11.80	8.26
1.60	18.20	19.30	6.04
2.00	22.20	23.40	5.41
Μέσος όρος			7.43

7.4 Αξιολόγηση της μεθόδου

Επίσης, η μέθοδος εκχύλισης και χρωματογραφικού προσδιορισμού του pyriproxyfen ελέγχθηκε ως προς την αξιοπιστία της με πειράματα ανάκτησης. Δείγματα μάρτυρα φορτίστηκαν με γνωστή ποσότητα πρότυπου διαλύματος εργασίας pyriproxyfen, έτσι ώστε να προκύψουν εμβολιασμένα δείγματα σε τρία διαφορετικά επίπεδα συγκεντρώσεων (παρ.6.5). Στη συνέχεια ακολουθήθηκαν οι προαναφερόμενες τεχνικές εκχύλισης, χρωματογραφικής ανάλυσης και προσδιορισμού της συγκέντρωσης του pyriproxyfen στα εμβολιασμένα δείγματα. Έτσι, προσδιορίστηκε η ποσότητα της δραστικής ουσίας που ανακτήθηκε σε σχέση με αυτή που εφαρμόστηκε με τη φόρτιση. Στις Εικόνες 14 και 15 απεικονίζονται τα χρωματογραφήματα των φορτίσεων του υποστρώματος της τομάτας και της πιπεριάς, αντίστοιχα, σε επίπεδο φόρτισης 0.03mg a.i./Kg. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για τα πειράματα ανάκτησης του fenhexamid σε ιστό τομάτας. Οι δοκιμές ανάκτησης έγιναν με τρεις επαναλήψεις και τα αποτελέσματα, δηλαδή η % ανάκτηση και η επαναληψιμότητα, η οποία εκφράζεται ως σχετική τυπική απόκλιση (RSD) της μεθόδου, παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.

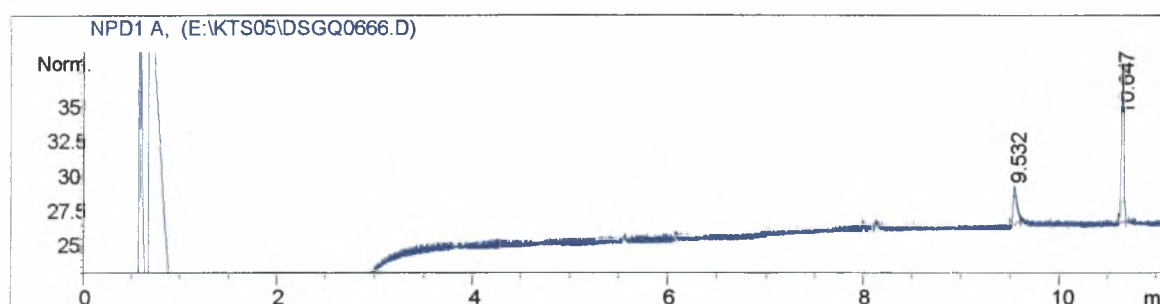
Πίνακας 4: Ποσοστά ανάκτησης των pyriproxyfen και fenhexamid και σχετική τυπική απόκλιση (RSD) σε λαχανικά για διάφορα επίπεδα φορτίσεων.

Δραστική ουσία	Υπόστρωμα	Ανάκτηση % ± RSD			
		0.03 mg/kg	0.10 mg/kg	0.50 mg/kg	1.00 mg/kg
Pyriproxyfen	Τομάτα	104 ± 3	103 ± 5	97 ± 2	---
	Μελιτζάνα	94 ± 7	97 ± 5	103 ± 3	---
	Πιπεριά	95 ± 4	98 ± 6	99 ± 2	---
Fenhexamid	Τομάτα	---	86 ± 9	92 ± 10	90 ± 7

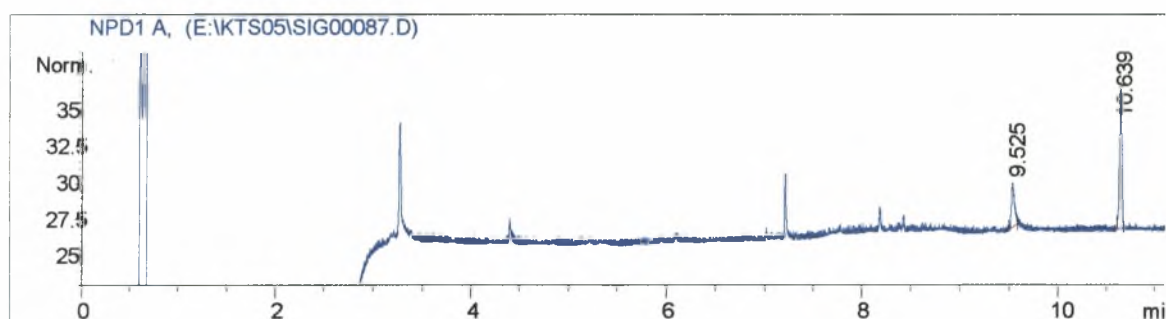
Οι τιμές ανάκτησης που προέκυψαν είναι ικανοποιητικές, καθώς είναι γνωστό ότι όταν η ανάκτηση κυμαίνεται μεταξύ 70% και 110% της συγκέντρωσης με την οποία φορτίστηκε ο μάρτυρας τότε η **ορθότητα** της μεθόδου θεωρείται αποδεκτή και τα αποτελέσματα αξιόπιστα (Council Directive 94/43/EC, Greve, 1984). Επίσης, οι τιμές των σχετικών τυπικών αποκλίσεων είναι < 7% για το pyriproxyfen και < 10% για το fenhexamid, τιμές οι οποίες οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η μέθοδος που αναπτύχθηκε και χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των δύο παρασιτοκτόνων σε λαχανικά εμφανίζει ικανοποιητική **ακρίβεια**. Στις Εικόνες 14 και

15 παρουσιάζονται χρωματογραφήματα φορτισμένων υποστρωμάτων τομάτας και πιπεριάς από τα πειράματα ανάκτησης.

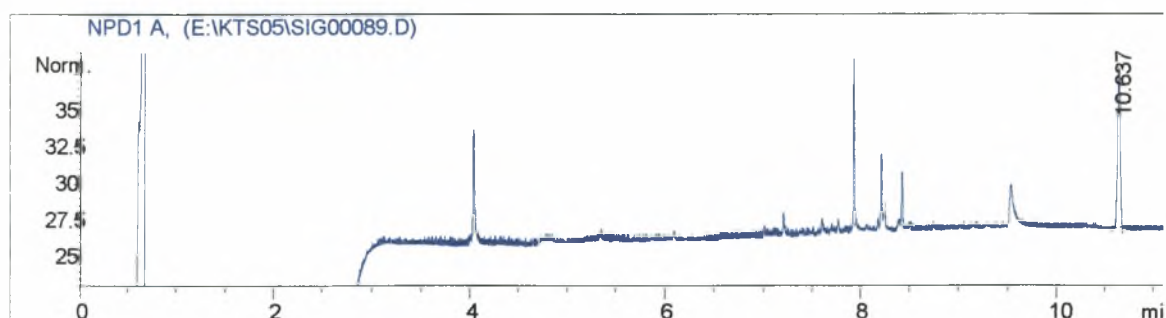
Ως όρια ανίχνευσης (Limits of Detection, **LOD**) ορίστηκαν, με βάση το τριπλάσιο του θορύβου χρωματογραφημάτων εκχυλισμάτων των υποστρωμάτων της μελέτης, τα 0.01mg a.i. /Kg για το pyriproxyfen και τα 0.03mg a.i. /Kg για το fenhexamid. Ως όρια ποσοτικοποίησης (Limits of Quantification, **LOQ**) ορίστηκαν τα 0.03mg a.i. /Kg για το pyriproxyfen και τα 0.10mg a.i. /Kg για το fenhexamid. Οι τιμές αυτές στα όρια ποσοτικοποίησης επιβεβαιώθηκαν και από τα αποτελέσματα των πειραμάτων ανάκτησης. Συγκεκριμένα ταυτίζονται με τα χαμηλότερα επίπεδα φορτίσεων και στα οποία παρατηρούνται πολύ καλά αποτελέσματα επαναληψιμότητας (< 9%) και ποσοστών ανάκτησης (86-104 %).



Εικόνα 13: Χρωματογράφημα πρότυπου διαλύματος pyriproxyfen και fenhexamid 1.0 mg/L



Εικόνα 14: Χρωματογράφημα φορτισμένου υποστρώματος τομάτας σε επίπεδο 0.3mg a.i./ Kg



Εικόνα 15: Χρωματογράφημα φορτισμένου υποστρώματος πιπεριάς, σε επίπεδο 0.3mg a.i./Kg

7.5 Υποβάθμιση των υπολειμμάτων του pyriproxyfen σε καρπούς τομάτας

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων των δειγμάτων τομάτας του πειράματος αγρού ως προς το υπολειμματικό φορτίο των καρπών σε pyriproxyfen στη θερμοκηπιακή και στην υπαίθρια καλλιέργεια παρουσιάζονται στους Πίνακες 5 και 6, αντίστοιχα.

Η αρχική συγκέντρωση του pyriproxyfen στην τομάτα θερμοκηπίου μετά τον πρώτο ψεκασμό με το σκεύασμα Admiral 10EC βρέθηκε να κυμαίνεται από 0.07 έως 0.17mg a.i./Kg, με μέση τιμή 0.09mg a.i./Kg, ενώ μετά και τον δεύτερο ψεκασμό, που ακολούθησε με το ίδιο σκεύασμα, βρέθηκε να κυμαίνεται από 0.12 έως 0.18mg a.i./Kg, με μέση τιμή 0.15 mg a.i./Kg.

Όσον αφορά τις τιμές των αρχικών συγκεντρώσεων του pyriproxyfen στην τομάτα της υπαίθριας καλλιέργειας αυτές κυμαίνονταν από 0.09 έως 0.14mg a.i./Kg, με μέση τιμή 0.12mg a.i./kg για τον πρώτο ψεκασμό και 0.14 έως 0.20mg a.i./Kg, με μέση τιμή 0.17mg a.i./Kg για τον δεύτερο.

Πίνακας 5: Μέση συγκέντρωση (n=3) υπολειμμάτων pyriproxyfen, σχετική τυπική απόκλιση (RSD) σε καρπούς τομάτας θερμοκηπιακής καλλιέργειας σε διάφορα χρονικά διαστήματα μετά την πρώτη και τη δεύτερη εφαρμογή του σκευάσματος Admiral 10EC.

Δειγματοληψία	Ημέρες μετά την εφαρμογή	Συγκέντρωση (mg/kg)	RSD (%)	Duncan Test	Significance
1^η εφαρμογή					
14/7/2005	0	0.09	37	a	0.266
15/7/2005	1	0.08	35	a	NS
18/7/2005	3	0.07	22	a	
20/7/2005	6	0.04	23	a	
22/7/2005	8	0.04	24	a	
24/7/2005	10	<0.03*			
2^η εφαρμογή					
24/7/2005	0	0.15	16	a	0.298
27/7/2005	3	0.13	36	a	NS
1/8/2005	6	0.11	28	a	

* Below detection limit

Πίνακας 6: Μέση συγκέντρωση (n=3) υπολειμμάτων pyriproxyfen, σχετική τυπική απόκλιση (RSD) σε καρπούς τομάτας υπαίθριας καλλιέργειας σε διάφορα χρονικά διαστήματα μετά την πρώτη και δεύτερη εφαρμογή του σκευάσματος Admiral 10 EC.

Δειγματοληψία	Ημέρες μετά την εφαρμογή	Συγκέντρωση (mg/kg)	RSD (%)	Duncan Test	Significance
1^η εφαρμογή					
8/8/2005	0	0.12	11	a	0.172
9/8/2005	1	0.10	4	a	NS
11/8/2005	3	0.09	5	a	
15/8/2005	7	0.08	34	a	
2^η εφαρμογή					
15/8/2005	0	0.17	31	a	0.024
18/8/2005	3	0.12	17	ab	*
25/8/2005	10	0.04	8	b	

Οι τιμές αυτές των υπολειμμάτων του pyriproxyfen στην τομάτα αν και είναι οι αρχικές συγκεντρώσεις, δηλαδή μερικές ώρες μετά τον ψεκασμό, είναι σαφώς κατώτερες της τιμής του εθνικού Ανώτατου Επιτρεπτού Ορίου υπολειμμάτων MRL που έχει θεσπισθεί στην τομάτα για το pyriproxyfen, που είναι 0.30mg a.i. /Kg αλλά και αυτών των ΗΠΑ και Αυστραλίας που είναι 0.20mg a.i. /Kg (σελ.28).

Ως προς την εξέλιξη των συγκεντρώσεων pyriproxyfen με το χρόνο, όπως φαίνεται στους Πίνακες 5 και 6, δεν παρατηρείται ταχεία υποβάθμισή τους. Αυτό επιβεβαιώνει και η στατιστική ανάλυση, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της οποίας δεν παρατηρούνται στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών ούτε στην πρώτη ούτε και στη δεύτερη εφαρμογή, τόσο στην θερμοκηπιακή όσο και στην υπαίθρια καλλιέργεια. Στη συμπεριφορά αυτή, εκτός από τη σταθερότητα του μορίου του pyriproxyfen, εκτιμούμε ότι συμμετέχει και το γεγονός της μη αραίωσης της δραστικής ουσίας λόγω αύξησης του μεγέθους του καρπού καθόσον οι συλλεχθέντες καρποί είχαν πάρει το τελικό μέγεθός τους (σελ. 60).

Για το χρονικό διάστημα των τριών ημερών από την εφαρμογή, που είναι το διάστημα τελευταίας Επέμβασης πριν τη Συγκομιδή (ΤΕΠΣ), σύμφωνα με την ετικέτα του σκευάσματος, σε όλες τις περιπτώσεις του πειράματός μας οι τιμές των υπολειμμάτων του pyriproxyfen είναι χαμηλότερες από 0.11 και 0.16mg a.i. /Kg στην περίπτωση της πρώτης και δεύτερης εφαρμογής, αντίστοιχα.

7.6 Υποβάθμιση των υπολειμμάτων του pyriproxyfen σε καρπούς πιπεριάς και μελιτζάνας

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων των δειγμάτων μελιτζάνας και πιπεριάς του πειράματος αγρού ως προς το υπολειμματικό φορτίο των καρπών σε pyriproxyfen στη παρουσιάζονται στους Πίνακες 7 και 8, αντίστοιχα.

Πίνακας 7: Μέση συγκέντρωση (n=3) υπολειμμάτων pyriproxyfen, σχετική τυπική απόκλιση (RSD) σε καρπούς μελιτζάνας υπαίθριας καλλιέργειας σε διάφορα χρονικά διαστήματα μετά την πρώτη και δεύτερη εφαρμογή του σκευάσματος Admiral 10 EC.

Δειγματοληψία	Ημέρες μετά την εφαρμογή	Συγκέντρωση (mg/kg)	RSD (%)	Duncan Test	Significance
1^η εφαρμογή					
15/7/2005	0	0.08	10	a	0.039
16/7/2005	1	0.05	39	b	*
18/7/2005	3	0.04	28	b	
2^η εφαρμογή					
23/7/2005	0	0.16	41	a	0.033
25/7/2005	2	0.09	30	b	*
27/7/2005	4	0.04	11	b	

Στον Πίνακα 7 όπου καταγράφονται οι μέσες συγκεντρώσεις των υπολειμμάτων του pyriproxyfen στη μελιτζάνα παρατηρούμε ότι και στις δύο εφαρμογές υπάρχει μια μικρή μείωση των υπολειμμάτων σε σχέση με το χρόνο. Σύμφωνα και με τη στατιστική ανάλυση υπάρχουν ελάχιστες στατιστικές διαφορές μεταξύ των ημερών. Η συμπεριφορά αυτή αποδίδεται στο ότι οι μελιτζάνες κατά το διάστημα του πειράματος παρουσίαζαν αύξηση του μεγέθους τους σε σχέση με τις τομάτες.

Οι τιμές των αρχικών συγκεντρώσεων του pyriproxyfen στα δείγματα μελιτζάνας υπαίθριας καλλιέργειας κυμαίνονταν από 0.07 έως 0.11mg a.i./Kg, με μέση τιμή 0.08mg a.i./Kg για τον πρώτο ψεκασμό και από 0.14 έως 0.19mg a.i./Kg, με μέση τιμή 0.16mg a.i./Kg για τον δεύτερο. Οι τιμές αυτές των υπολειμμάτων του pyriproxyfen που μετρήθηκαν στα δείγματα μελιτζάνας του πειράματός μας είναι σαφώς κατώτερες της τιμής του εθνικού Ανώτατου Επιτρεπτού Ορίου υπολειμμάτων MRL που έχει θεσπισθεί στη μελιτζάνα για το pyriproxyfen, που είναι 0.30mg a.i. /Kg (σελ.28), αν και είναι οι αρχικές συγκεντρώσεις (αμέσως μετά τον ψεκασμό). Στις Εικόνες 16 και 17

παρουσιάζονται χρωματογραφήματα από πρότυπα διάλυμα pyriproxyfen σε εκχύλισμα υποστρώματος μελιτζάνας και από δείγμα μελιτζάνας από τον πειραματικό αγρό.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των τιμών των υπολειμμάτων του pyriproxyfen σε δείγματα καρπών από την υπαίθρια καλλιέργεια πιπεριάς κατά τη χρονική περίοδο του πειράματός μας, που καταγράφονται στον Πίνακα 8, παρατηρούμε ότι παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική μείωση των υπολειμμάτων μεταξύ των ημερών που ακολουθούν τόσο μετά την πρώτη όσο και μετά τη δεύτερη εφαρμογή του εντομοκτόνου. Η διαφορά παρατηρείται και για τις δυο εφαρμογές μεταξύ της ημέρας του ψεκασμού (0 HME) και της επόμενης αυτής (1 HME). Ακολούθως μέχρι και 5 HME υπάρχει μια μικρή μείωση και στη συνέχεια από την έβδομη (7 HME) και μετά η μείωση συνεχίζεται μέχρι και 10 HME που ολοκληρώθηκαν οι μετρήσεις στα πλαίσια του πειράματός μας. Επίσης, μείωση των υπολειμμάτων στο 50% των αρχικών συγκεντρώσεων από την ημέρα του ψεκασμού παρατηρείται μεταξύ πέμπτης και έβδομης HME και στις δυο εφαρμογές. Στις Εικόνες 18 και 19 παρουσιάζονται χρωματογραφήματα από δείγμα μάρτυρα και από δείγμα πιπεριάς (ψεκασμένο) από τον πειραματικό αγρό.

Πίνακας 8: Μέση συγκέντρωση (n=3), σχετική τυπική απόκλιση (RSD) υπολειμμάτων pyriproxyfen σε καρπούς πιπεριάς υπαίθριας καλλιέργειας σε διάφορα χρονικά διαστήματα μετά την πρώτη και τη δεύτερη εφαρμογή του σκευάσματος Admiral 10EC

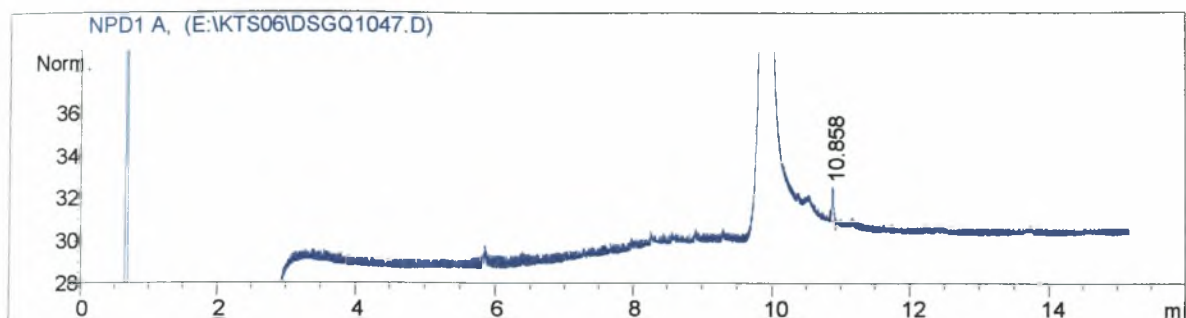
Δειγματοληψία	Ημέρες μετά την εφαρμογή	Συγκέντρωση (mg/kg)	RSD (%)	Duncan Test	Significance
1^η εφαρμογή					
15/7/2005	0	0.45	15	a	0.000
16/7/2005	1	0.36	12	b	***
18/7/2005	3	0.31	29	b	
20/7/2005	5	0.30	29	b	
22/7/2005	7	0.10	34	c	
25/7/2005	10	0.08	12	c	
2^η εφαρμογή					
25/7/2005	0	0.62	2	a	0.000
26/7/2005	1	0.51	28	b	***
28/7/2005	3	0.39	8	bc	
1/8/2005	7	0.30	17	c	
4/8/2005	10	0.23	25	c	

Συγκρίνοντας τη συμπεριφορά της υποβάθμισης των υπολειμμάτων του pyriproxyfen στην πιπεριά σε σχέση με αυτή στη τομάτα, όπως αυτά καταγράφηκαν στα πειραματικά μας αποτελέσματα, μπορούμε να δικαιολογήσουμε την παρατηρούμενη διαφορά του ρυθμού υποβάθμισης στην πιο γρήγορη αύξηση των καρπών της πιπεριάς σε σχέση με αυτούς της τομάτας.

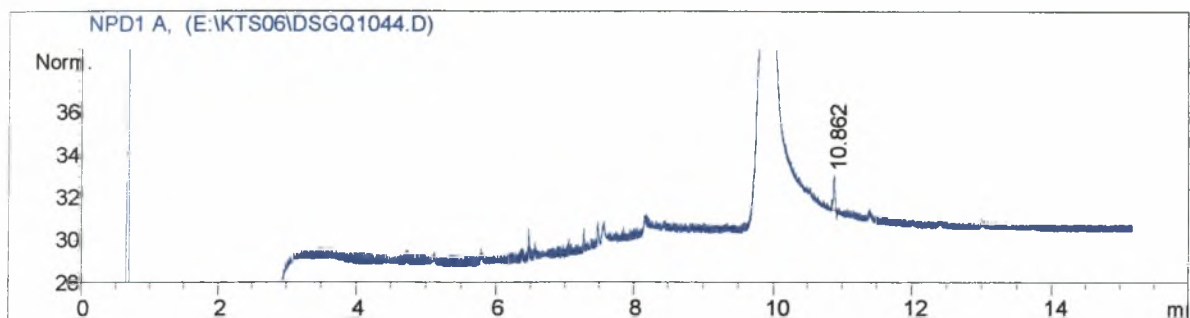
Τα υψηλότερα επίπεδα τιμών υπολειμμάτων που παρατηρούνται στην πιπεριά, τόσο στις 0 HME όσο και σε όλη τη χρονική περίοδο του πειράματός μας, σε σχέση με τις τιμές υπολειμμάτων στην τομάτα και μελιτζάνα αποδίδονται στη διαφορετική τιμή του λόγου επιφάνειας προς το βάρος των καρπών των τριών λαχανικών της μελέτης μας. Συγκεκριμένα η αναλογία επιφάνειας προς βάρος είναι πολύ διαφορετική για την πιπεριά σε σχέση με τη μελιτζάνα και την τομάτα καθόσον οι καρποί της πιπεριάς είναι κενοί, ενώ αυτοί της μελιτζάνας και της τομάτας συμπαγείς και πλήρεις σάρκας.

Οι τιμές των υπολειμμάτων του pyriproxyfen στους καρπούς της πιπεριάς αμέσως μετά την πρώτη εφαρμογή (0 HME) κυμαίνονται οριακά, κοντά στην τιμή του εθνικού Ανώτατου Ορίου υπολειμμάτων MRL που έχει θεσπισθεί στην πιπεριά για το pyriproxyfen, που είναι 0.50mg a.i./Kg. Μετά τη δεύτερη εφαρμογή παρατηρούμε ότι η μέση αρχική συγκέντρωση (0 HME) των υπολειμμάτων pyriproxyfen ξεπερνά το όριο των 0.50mg a.i./Kg, ενώ χρειάζονται τρεις ημέρες (3 HME) για να μειωθεί κάτω από το όριο αυτό. Παρόλα αυτά, το χρονικό διάστημα των τριών ημερών από την εφαρμογή, δηλαδή το διάστημα της τελευταίας Επέμβασης πριν τη Συγκομιδή (ΤΕΠΣ), σύμφωνα με την ετικέτα του σκευάσματος, καλύπτεται και στις δύο εφαρμογές του πειράματός μας, καθώς 3 HME η συγκέντρωση των υπολειμμάτων είναι <0.35mg a.i./Kg στην πρώτη εφαρμογή και <0.42 mg a.i./Kg στη δεύτερη εφαρμογή. Στη δεύτερη εφαρμογή, την τρίτη HME, οι τιμές των συγκεντρώσεων κυμαίνονται από 0.34 έως 0.42mg a.i./Kg, με μέσο όρο τα 0.39mg a.i./Kg.

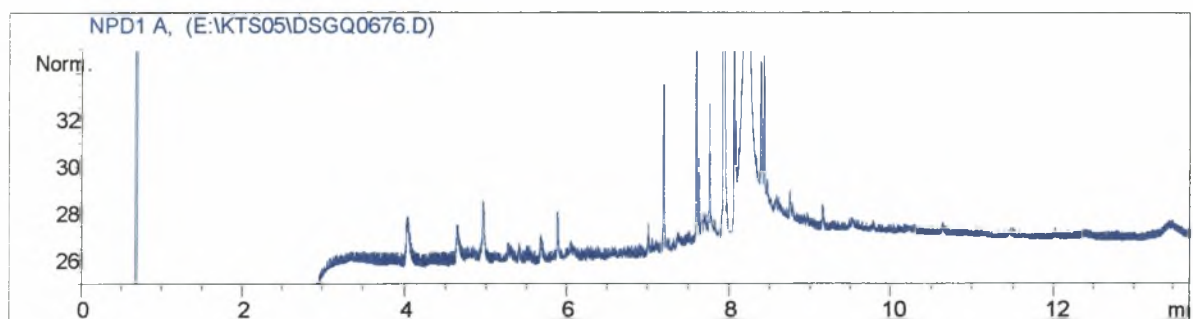
Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι αν και στην Ελλάδα, όπου το MRL για το pyriproxyfen στις πιπεριές είναι 0.50mg a.i./Kg, το προσυλλεκτικό διάστημα των τριών ημερών για την εφαρμογή του pyriproxyfen καλύπτεται, σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, κάτι τέτοιο δε συμβαίνει για τις τιμές MRL που έχουν θεσπισθεί στην Αυστραλία και στις Η.Π.Α. που είναι 0.20mg a.i./Kg. και την Ισπανία, όπου το MRL είναι 0.05mg a.i./Kg.



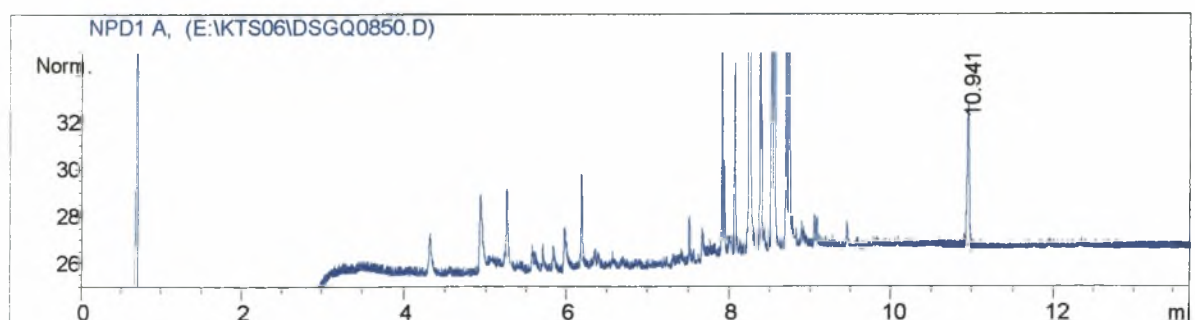
Εικόνα 16: Χρωματογράφημα πρότυπου διαλύματος pyriproxyfen 0.10mg/L σε εκχύλισμα υποστρώματος μελιτζάνας



Εικόνα 17: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος δείγματος μελιτζάνας (ψεκάσμένο) από το πείραμα αγρού



Εικόνα 18: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος δείγματος πιπεριάς (μάρτυρας) από το πείραμα αγρού



Εικόνα 19: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος δείγματος πιπεριάς (ψεκάσμένο) από το πείραμα αγρού

7.7 Υποβάθμιση των υπολειμμάτων του fenhexamid σε καρπούς τομάτας

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων των δειγμάτων τομάτας του πειράματος αγρού ως προς το υπολειμματικό φορτίο των καρπών σε fenhexamid στη θερμοκηπιακή και στην υπαίθρια καλλιέργεια παρουσιάζονται στους Πίνακες 9 και 10, αντίστοιχα.

Οι τιμές των αρχικών συγκεντρώσεων (0 HME) του fenhexamid στα δείγματα τομάτας θερμοκηπιακής καλλιέργειας κυμαίνονταν από 0.45 έως 0.95mg a.i./Kg, με μέση τιμή 0.68mg a.i./Kg, για τον πρώτο ψεκασμό και 0.85 έως 1.12mg a.i./Kg, με μέση τιμή 1.04mg a.i./Kg για τον δεύτερο. Οι τιμές των αρχικών συγκεντρώσεων του fenhexamid στα δείγματα τομάτας υπαίθριας καλλιέργειας κυμαίνονταν από 0.65 έως 1.03mg a.i./Kg, με μέση τιμή 0.83mg a.i./kg, για τον πρώτο ψεκασμό και από 1.12 έως 1.35mg a.i./Kg, με μέση τιμή 1.24mg a.i./kg, για τον δεύτερο.

Πίνακας 9: Μέση συγκέντρωση (n=3), σχετική τυπική απόκλιση (RSD) υπολειμμάτων fenhexamid σε καρπούς τομάτας θερμοκηπιακής καλλιέργειας σε διάφορα χρονικά διαστήματα μετά την πρώτη και τη δεύτερη εφαρμογή του σκευάσματος Teldor 50WG.

Δειγματοληψία	Ημέρες μετά την εφαρμογή	Συγκέντρωση (mg/kg)	RSD (%)	Duncan Test	Significance
1^η εφαρμογή					
14/7/2005	0	0.68	27	ab	0.027
15/7/2005	1	0.63	22	ab	*
18/7/2005	3	0.70	10	a	
20/7/2005	6	0.67	13	ab	
22/7/2005	8	0.57	30	b	
24/7/2005	10	0.46	14	b	
2^η εφαρμογή					
24/7/2005	0	1.04	25	a	0.098
27/7/2005	3	0.92	28	ab	*
1/8/2005	6	0.77	16	b	

Πίνακας 10: Μέση συγκέντρωση (n=3), σχετική τυπική απόκλιση (RSD) υπολειμμάτων fenhexamid σε καρπούς τομάτας υπαίθριας καλλιέργειας σε διάφορα χρονικά διαστήματα μετά την πρώτη και δεύτερη εφαρμογή του σκευάσματος Teldor 50WG.

Δειγματοληψία	Ημέρες μετά την εφαρμογή	Συγκέντρωση (mg/kg)	RSD (%)	Duncan Test	Significance
1^η εφαρμογή					
8/8/2005	0	0.83	23	a	0.798
9/8/2005	1	0.77	16	a	NS
11/8/2005	3	0.66	20	a	
15/8/2005	7	0.62	28	a	
2^η εφαρμογή					
15/8/2005	0	1.24	13	a	0.120
18/8/2005	3	1.03	27	a	NS
25/8/2005	10	0.84	4	a	

Μικρές στατιστικές διαφορές παρατηρούνται στις τιμές των υπολειμμάτων του fenhexamid μεταξύ των ημερών μετά την εφαρμογή τόσο στην θερμοκηπιακή όσο και στην υπαίθρια καλλιέργεια. Ακόμη και 10 HME τα υπολείμματα του fenhexamid δεν έχουν μειωθεί ούτε στο 50% της αρχικής συγκέντρωσης τους καθώς εμφανίζουν μικρό ρυθμό υποβάθμισης στην αναφερόμενη χρονική περίοδο. Σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα υποβάθμισης του fenhexamid σε σταφύλια με τον (Cabras *et al*, 2001) τα υπολείμματα του fenhexamid φτάνουν στο 50% της αρχικής συγκέντρωσης τη δεύτερη ημέρα μετά τον ψεκασμό και η υποβάθμισή τους συνεχίζεται με αργό ρυθμό μέχρι και την εικοστή πρώτη ημέρα, όπου καταγράφονται επίπεδα της τάξης του 37% της αρχικής συγκέντρωσης. Από πειράματα των Angioni *et al*, 2004 τα υπολείμματα του fenhexamid ήταν κατά μέσον όρο 2.99mg a.i./Kg, τα οποία είναι πολύ κοντά στο MRL 3.0mg a.i./Kg, αλλά μερικά δείγματα ήταν και άνω του MRL. Αργότερα, όλα τα υπολείμματα μειωνόταν, με χρόνο ημίσειας ζωής περίπου 8 ημέρες. Στη συνέχεια, η υποβάθμιση των υπολειμμάτων συνεχίζεται με αργό ρυθμό όπως και στα σταφύλια.

Οι αρχικές τιμές των υπολειμμάτων του fenhexamid που μετρήθηκαν στα δείγματα τομάτας του πειράματός μας αμέσως μετά τον ψεκασμό (0 HME) είναι οριακές της τιμής του Ευρωπαϊκού Ανώτατου Ορίου υπολειμμάτων, που έχει θεσπισθεί στην τομάτα για το fenhexamid και είναι 1.00mg a.i./Kg (σελ.28), στην περίπτωση του

πρώτου ψεκασμού. Στην περίπτωση του επαναλαμβανόμενου δεύτερου ψεκασμού και για την θερμοκηπιακή και για την υπαίθρια καλλιέργεια παρατηρείται υπέρβαση της τιμής ορίου, 1.00mg a.i./Kg, στις 0 HME, υπέρβαση η οποία διατηρείται μέχρι και τις 3 HME όπου το εύρος των τιμών που μετρήθηκαν στα δείγματα τομάτας του πειράματος μας κυμαίνονται από 0.57 έως 1.02mg a.i./Kg και από 0.61 έως 1.08mg a.i./Kg για τα δείγματα της θερμοκηπιακής και υπαίθριας καλλιέργειας, αντίστοιχα.

Με βάση αυτά τα αποτελέσματα μπορούμε να πούμε ότι το χρονικό διάστημα των δέκα ημερών μεταξύ δύο ψεκασμών με fenhexamid δεν είναι αρκετό, καθώς μέχρι και 10 HME η παραμένουσα συγκέντρωση υπολειμμάτων δρα αθροιστικά με τη συγκέντρωση που προστίθεται κατά τον δεύτερο ψεκασμό. Αποτέλεσμα αυτού είναι να παρατηρείται υπέρβαση του Ανώτατου Επιτρεπτού Ορίου Υπολειμμάτων και το μετασυλλεκτικό διάστημα της μιας ημέρας από την εφαρμογή, όπως αναγράφεται στη συσκευασία του σκευάσματος, να μην είναι αρκετό για την μείωση του υπολειμματικού φορτίου των καρπών τομάτας σε fenhexamid. Η κατάσταση αυτή θα μπορούσε να αντιμετωπιστεί με εναλλαγή του μυκητοκτόνου στην καταπολέμηση των ασθενειών, εναλλαγή που συνίσταται άλλωστε και για λόγους αποφυγής ανάπτυξης ανθεκτικότητας των μυκήτων στη συγκεκριμένη δραστική ουσία.

7.8 Επίδραση της πλύσης στη μείωση των υπολειμμάτων pyriproxyfen

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εκτέλεση του πειράματος για την επίδραση της διαδικασίας πλύσης των καρπών τομάτας, μελιτζάνας και πιπεριάς στο υπολειμματικό φορτίο του pyriproxyfen στους προαναφερθέντες καρπούς παρουσιάζονται στον Πίνακα 11. Οι τιμές συγκέντρωσης pyriproxyfen στα δείγματα που αναλύθηκαν χωρίς να υποστούν τη διαδικασία πλύσης (Μη πλυμένοι καρποί) και αυτές στα δείγματα που αναλύθηκαν αφού υπέστησαν τη διαδικασία πλύσης (πλυμένοι καρποί) συγκρίθηκαν για κάθε δειγματοληψία μεταξύ τους με τη στατιστική δοκιμασία *t*-test ώστε να προκύψει αν υπάρχει ή όχι στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση των συγκεντρώσεων υπολειμμάτων pyriproxyfen μετά τη διαδικασία της πλύσης των καρπών.

Σύμφωνα με τα εικονιζόμενα αποτελέσματα στα δείγματα καρπών που υπέστησαν τη διαδικασία πλύσης μετρήθηκαν υπολείμματα pyriproxyfen κατά 0-23% χαμηλότερα σε σχέση με τα δείγματα που δεν υπέστησαν τη διαδικασία αυτή. Από τη

στατιστική ανάλυση δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση, σε επίπεδο σημαντικότητας 95%, των υπολειμμάτων pyriproxyfen πριν και μετά τη διαδικασία πλύσης των καρπών.

Πίνακας 11: Σύγκριση συγκεντρώσεων (μέση τιμή, n=3), σχετική τυπική απόκλιση (RSD) και ποσοστό μείωσης των υπολειμμάτων pyriproxyfen μεταξύ δειγμάτων μη πλυμένων και πλυμένων καρπών τομάτας, πιπεριάς και μελιτζάνας.

Είδος καρπού	Δειγματοληψία	ΜΗ ΠΛΥΜΕΝΟΙ ΚΑΡΠΟΙ		ΠΛΥΜΕΝΟΙ ΚΑΡΠΟΙ		Ποσοστό μείωσης (%)	Significance
		Συγκέντρωση (mg/kg)	RSD (%)	Συγκέντρωση (mg/kg)	RSD (%)		
Τομάτες	20/7/2005	0.04	24	0.04	21	0	0.713 NS
	27/7/2005	0.13	37	0.11	32	15	0.585 NS
	11/8/2005	0.09	5	0.09	32	0	0.621 NS
Πιπεριές	20/7/2005	0.30	29	0.23	14	23	0.277 NS
	22/7/2005	0.13	34	0.12	26	8	0.890 NS
	28/7/2005	0.39	8	0.37	18	5	0.903 NS
Μελι-τζάνες	25/7/2005	0.09	30	0.08	8	11	0.304 NS
	27/7/2005	0.04	11	0.04	31	0	0.812 NS

NS: Δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 95%.

Η συμπεριφορά αυτή του pyriproxyfen να μένει προσδεμένο στην κηρώδη επιφάνεια των καρπών αποδίδεται στον λιπόφιλο χαρακτήρα του μορίου όπως φαίνεται και από την υψηλή τιμή του συντελεστή κατανομής οκτανόλης-νερού $\log K_{ow}$, που είναι ίση με 5.31 (Pesticide Manual, 2002).

Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρείται στα υπολείμματα των pyridaben και tralomethrin στην πιπεριά. Η εφαρμογή της πλύσης στα δείγματα των πιπεριών δεν οδήγησε σε σημαντική μείωση του επιπέδου των υπολειμμάτων τους (Valverde *et al*, 2002). Αυτό οφείλεται στο λιπόφιλο χαρακτήρα των μορίων pyridaben και tralomethrin, όπως και στην περίπτωση του pyriproxyfen. Το pyridaben έχει συντελεστή κατανομής οκτανόλης-νερού $\log K_{ow}$ ίσο με 6.37 και διαλυτότητα στο νερό 0.012mg/L, ενώ το tralomethrin έχει συντελεστή κατανομής οκτανόλης-νερού $\log K_{ow}$ περίπου 5 και υδατοδιαλυτότητα 0.080mg/ L.

7.9 Επίδραση της πλύσης στη μείωση των υπολειμμάτων fenhexamid

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εκτέλεση του πειράματος για την επίδραση της διαδικασίας πλύσης των καρπών τομάτας στο υπολειμματικό φορτίο του fenhexamid στους καρπούς τομάτας παρουσιάζονται στον Πίνακα 12. Οι τιμές συγκέντρωσης fenhexamid στα δείγματα που αναλύθηκαν χωρίς να υποστούν τη διαδικασία πλύσης (Μη πλυμένοι καρποί) και αυτές στα δείγματα που αναλύθηκαν αφού υπέστησαν τη διαδικασία πλύσης (πλυμένοι καρποί) συγκρίθηκαν για κάθε δειγματοληψία μεταξύ τους με τη στατιστική δοκιμασία *t*-test όπως προαναφέρθηκε στο 7.8 .

Πίνακας 12: Σύγκριση συγκεντρώσεων (μέση τιμή, n=3), σχετική τυπική απόκλιση (RSD) και ποσοστό μείωσης των υπολειμμάτων fenhexamid μεταξύ δειγμάτων μη πλυμένων και πλυμένων καρπών τομάτας.

Είδος καρπού	Δειγματοληψία	ΜΗ ΠΛΥΜΕΝΟΙ ΚΑΡΠΟΙ		ΠΛΥΜΕΝΟΙ ΚΑΡΠΟΙ		Ποσοστό μείωσης (%)	Significance
		Συγκέντρωση (mg/kg)	RSD (%)	Συγκέντρωση (mg/kg)	RSD (%)		
Τομάτες	20/7/2005	0.67	13	<0.10*	32	>85%	0.000 ***
	27/7/2005	0.92	18	<0.10*	27	>89%	0.000 ***
	11/8/2005	0.66	20	<0.10*	22	>85%	0.000 ***

* Below detection limit

***: Υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 95%

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Πίνακα 12 στον οποίο καταγράφονται τα αποτελέσματα των μέσων συγκεντρώσεων των υπολειμμάτων του fenhexamid των πλυμένων και άπλυτων καρπών τομάτας παρατηρούμε μια μείωση των υπολειμμάτων μεγαλύτερη του 85% στους πλυμένους καρπούς και στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των υπολειμμάτων fenhexamid στα δείγματα πλυμένων και άπλυτων καρπών της τομάτας, σε αντίθεση με την περίπτωση του pyriproxyfen. Η συμπεριφορά αυτή του fenhexamid να παρασύρεται από την επιφάνεια των καρπών με το νερό της πλύσης των καρπών τομάτας αποδίδεται στην υδατοδιαλυτότητα του μορίου, η οποία είναι 20 mg/L στους 20°C (Pesticide Manual, 2002) και στο μειωμένο λιπόφιλο χαρακτήρα του (logK_{ow} =3.51). Παρόμοια συμπεριφορά αναφέρεται και σε πειράματα πλύσης δειγμάτων φράουλας με νερό βρύσης η οποία βρέθηκε να μειώνει σημαντικά τα υπολείμματα του fenhexamid (Angioni *et al*, 2004).

8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία η αναλυτική μεθοδολογία που αναπτύχθηκε και ελέγχθηκε για τον προσδιορισμό του pyriproxyfen και του fenhexamid σε καρπούς τομάτας, πιπεριάς και μελιτζάνας παρουσιάζεται αξιόπιστη καθώς τόσο η ορθότητά της όσο και η ακρίβειά της βρέθηκαν να έχουν ικανοποιητικές τιμές αφού και οι ανακτήσεις αλλά και η επαναληψιμότητα στα πειράματα ανάκτησης κυμαίνονται από 94 μέχρι 104% και από 2 μέχρι 7%, αντίστοιχα, για το pyriproxyfen σε όλους τους ιστούς λαχανικών της μελέτης και από 92 μέχρι 96% και από 7 μέχρι 10%, αντίστοιχα, για το fenhexamid σε ιστούς τομάτας. Η μέθοδος δοκιμάστηκε στον προσδιορισμό υπολειμμάτων του pyriproxyfen και του fenhexamid σε ιστούς λαχανικών σε πειράματα αγρού για τη μελέτη της υποβάθμισης των παρασιτοκτόνων. Η μέθοδος εμφάνισε την απαιτούμενη ειδικότητα αφού όλα τα αναλυθέντα δείγματα μάρτυρα των καλλιεργειών δεν εμφάνισαν κορυφές που να παρεμποδίζουν τον προσδιορισμό των παρασιτοκτόνων της μελέτης και εμφάνισε επίσης την απαιτούμενη ευαισθησία καθώς τα όρια προσδιορισμού της μεθόδου ήταν αρκετά χαμηλά και επέτρεπαν τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων μέχρι και στο υποδεκαπλάσιο περίπου των τιμών MRLs των μορίων της μελέτης για τις προαναφερθείσες καλλιέργειες.

Σχετικά με τα πειράματα αγρού από την παρακολούθηση της πορείας των υπολειμμάτων του pyriproxyfen στους καρπούς της τομάτας τόσο της θερμοκηπιακής όσο και της υπαίθριας καλλιέργειας, καθώς επίσης και στις υπαίθριες καλλιέργειες της μελιτζάνας και της πιπεριάς, μετά τον ψεκασμό τους με τη συνιστώμενη δόση (50mL/100L νερού) του Admiral 10EC προέκυψαν τα ακόλουθα συμπεράσματα για την κάθε καλλιέργεια.

Οι τιμές της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων του pyriproxyfen ακόμη και λίγες ώρες μετά τον ψεκασμό (0 HME), είτε αυτός είναι ο πρώτος ψεκασμός είτε είναι δεύτερος, επαναλαμβανόμενος, μετά από 10 ημέρες, είναι χαμηλότερες της τιμής του εθνικού Ανώτατου Επιτρεπτού Ορίου (MRL), που είναι 0.30mg a.i./Kg για την τομάτα και τη μελιτζάνα και 0.50mg a.i./Kg για την πιπεριά, καθώς κυμαίνονται από 0.07 έως 0.20mg a.i./Kg και από 0.07 έως 0.19mg a.i./Kg για την τομάτα και τη μελιτζάνα, αντίστοιχα.

Οι τιμές των υπολειμμάτων του pyriproxyfen στους καρπούς της πιπεριάς στις 0 HME κυμαίνονται από 0.38 έως 0.53mg a.i./Kg κοντά στην τιμή του εθνικού MRL στην πιπεριά, που είναι 0.50mg a.i./Kg μετά τον πρώτο ψεκάσμό, ενώ στην περίπτωση και δεύτερου επαναλαμβανόμενου, σε δέκα ημέρες, ψεκάσμού της ίδιας καλλιέργειας υπερβαίνουν το όριο των 0.50mg a.i./Kg καθόσον βρέθηκαν να κυμαίνονται από 0.57 έως 0.67mg a.i./Kg.

Στις καλλιέργειες της μελέτης παρατηρήθηκε σχετικά μικρός ρυθμός υποβάθμισης των υπολειμμάτων του pyriproxyfen. Σε κάθε περίπτωση στο χρονικό διάστημα των τριών ημερών από την εφαρμογή, δηλαδή το διάστημα της τελευταίας Επέμβασης πριν τη Συγκομιδή (ΤΕΠΣ), σύμφωνα με την ετικέτα του σκευάσματος, για όλες τις καλλιέργειες και για τις δύο εφαρμογές του πειράματός μας, οι τιμές των συγκεντρώσεων των υπολειμμάτων είναι χαμηλότερες των τιμών MRLs για κάθε καλλιέργεια καθόσον κυμαίνονται από 0.04 έως 0.16mg a.i./Kg, από 0.02 έως 0.08mg a.i./Kg και από 0.27 έως 0.42mg a.i./Kg για την τομάτα, τη μελιτζάνα και την πιπεριά, αντίστοιχα. Από τα παραπάνω πειραματικά αποτελέσματα προκύπτει πως το προτεινόμενο μετασुλλεκτικό διάστημα από την εφαρμογή του σκευάσματος που αναγράφονται στη συσκευασία είναι ικανοποιητικό και ότι τα συγκομισθέντα προϊόντα σε αυτό το διάστημα είχαν υπολειμματικό φορτίο σε pyriproxyfen χαμηλότερο του εθνικού Ανώτατου Επιτρεπτού Ορίου.

Τα υψηλότερα αυτά επίπεδα, συγκρίνοντάς τα με τις τιμές των υπολειμμάτων των άλλων δύο καλλιεργειών, οφείλονται στη διαφορετική τιμή του λόγου της επιφάνειας προς το βάρος των καρπών των τριών λαχανικών της μελέτης μας.

Σχετικά με τα πειράματα αγρού από την παρακολούθηση της πορείας των υπολειμμάτων του fenhexamid στους καρπούς της τομάτας τόσο της θερμοκηπιακής όσο και της υπαίθριας καλλιέργειας μετά τον ψεκάσμό τους με τη συνιστώμενη δόση (150 gr/ 100 L νερό) του Teldor 50WG προέκυψαν τα ακόλουθα συμπεράσματα .

Οι τιμές των συγκεντρώσεων των υπολειμμάτων μετά τον πρώτο ψεκάσμό βρέθηκαν κάτω του ευρωπαϊκού MRL (που είναι 1.00mg a.i./Kg) τόσο στις 0 HME όσο και 1 HME, που είναι το ΤΕΠΣ σύμφωνα με την ετικέτα του σκευάσματος, καθόσον βρέθηκαν να κυμαίνονται από 0.45 έως 1.35mg a.i./Kg και από 0.41 έως 0.98mg a.i./Kg, αντίστοιχα. Προσοχή όμως πρέπει να δοθεί στο χρονικό διάστημα μεταξύ επαναλαμβανόμενων ψεκάσμων διότι σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματός μας οι τιμές των συγκεντρώσεων του fenhexamid που μετρήθηκαν στα δείγματα

τομάτας που δέχτηκαν επαναλαμβανόμενο ψεκασμό 7 ημέρες μετά τον πρώτο, υπερβαίνουν την τιμή του MRL τόσο στις 0 HME όσο και στην 1 HME που είναι το προτεινόμενο ΤΕΠΣ. Συνεπώς, χρειάζεται μια περαιτέρω μελέτη σχετικά με το ΤΕΠΣ του fenhexamid στα λαχανικά. Επίσης πρέπει να σημειωθεί ότι πρέπει να γίνεται εναλλαγή των μυκητοκτόνων με άλλα διαφορετικού τρόπου δράσης σε μια καλλιεργητική περίοδο, όχι μόνο για την αποφυγή αύξησης των υπολειμμάτων ενός μυκητοκτόνου, αλλά και για την πρόληψη ανάπτυξης ανθεκτικότητας των μυκήτων.

Από τη μελέτη της επίδρασης της διαδικασίας της πλύσης με νερό βρύσης στους καρπούς των λαχανικών στους οποίους είχε εφαρμοστεί το pyriproxyfen, συμπεραίνουμε ότι ανεξάρτητα από το είδος του καρπού οι συγκεντρώσεις του pyriproxyfen δεν επηρεάζονται από τη διαδικασία της πλύσης, συμπεριφορά που αποδίδεται στον ισχυρά λιπόφιλο χαρακτήρα του μορίου. Αντιθέτως τα αποτελέσματα της επίδρασης της διαδικασίας της πλύσης με νερό βρύσης στις συγκεντρώσεις του fenhexamid στους καρπούς της τομάτας έδειξαν πολύ μεγάλη μείωση του υπολειμματικού φορτίου του fenhexamid (μείωση >85%), συμπεριφορά που αποδίδεται στη σχετικά σημαντική τιμή υδατοδιαλυτότητας του fenhexamid. Η μείωση αυτή είναι τόσο έντονη που οδήγησε ακόμη και δείγματα τομάτας με υπέρβαση ως προς το υπολειμματικό φορτίο σε fenhexamid να παρουσιάζουν μη ανιχνεύσιμο φορτίο μετά την πλύση τους, ακολουθώντας μια συνηθισμένη οικιακή διαδικασία πλύσης με νερό βρύσης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Γιαννοπολίτης Ν. Κ., 2005.** Οδηγός Γεωργικών Φαρμάκων 2005. Εκδόσεις Αγροτύπος αε, Αθήνα. σελ. 56, σελ. 103-104, σελ. 300.
2. **Γιαννουσοπούλου Όλγα, 2004.** Πτυχιακή διατριβή «Συγκριτική παρακολούθηση των υπολειμμάτων επιλεγμένων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε υπαίθρια και υπό κάλυψη υδροπονική καλλιέργεια τομάτας». Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.
3. **Καλαμαράκη Ε. Α. & Μαρκάκης Κ., 2004.** «Οι επιπτώσεις από την επαναξιολόγηση δραστικών ουσιών μυκητοκτόνων στα πλαίσια της Ε.Ε.». Πρακτικά 4^{ης} Πανελλήνιας συνάντησης φυτοπροστασίας: «Η φυτοπροστασία σήμερα». σελ. 155-157 & 161-162.
4. **Καρπούζας Γ. Δημήτριος, 2003.** Γεωργική Φαρμακολογία. Πανεπιστημιακές παραδόσεις, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας, Βόλος. σελ. 23-24, σελ. 62-63.
5. **Κασσαβέτη Αικατερίνη, 2004.** Πτυχιακή διατριβή «Συγκριτική παρακολούθηση των υπολειμμάτων επιλεγμένων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε υδροπονική και συμβατική καλλιέργεια τομάτας υπό κάλυψη». Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.
6. **Λόλας Χ. Πέτρος, 2003.** Ζιζανιολογία, Ζιζάνια – Ζιζανιοκτόνα, Τύχη και συμπεριφορά στο περιβάλλον. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη. σελ. 331-332.
7. **Μηλιάδης Ε. Γεώργιος, 2004.** Υγρή χρωματογραφία, Θεωρία – Εφαρμογές. Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Αθήνα.
8. **Μπέλη Αικατερίνη, 2005.** Πτυχιακή διατριβή «Συγκριτική παρακολούθηση υποβάθμισης υπολειμμάτων δύο σκευασμάτων fenitrothion σε σταφύλια σε αμπελώννα της περιοχής Ν. Αγχιάλου». Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.
9. **Ολύμπιος Μ. Χρίστος, 2001.** Η τεχνική της καλλιέργειας των κηπευτικών στα θερμοκήπια. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, Αθήνα.
10. **Οδηγία 91/414/ΕΟΚ του Συμβουλίου της 15^{ης} Ιουλίου 1991** σχετικά με τη διάθεση στην αγορά φυτοπροστατευτικών προϊόντων Φ.Π.
11. **Παναγόπουλος Γ. Σ., 1984.** Βασικές γνώσεις Φυτοπαθολογίας. Αθήνα. σελ. 61.

12. **Παναγόπουλος Γ. Σ., 2000.** Ασθένειες κηπευτικών καλλιεργειών. Εκδόσεις Α Αθ. Σταμούλης, Αθήνα.
13. **Σταμόπουλος Κ. Δημ., 1999.** Έντομα αποθηκών μεγάλων καλλιεργειών και λαχανικών. Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη. σελ. 199-201.
14. **Τζάμος Κ. Ελευθέριος, 2004.** Φυτοπαθολογία. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, Αθήνα. σελ. 164.
15. **Τζανακάκης Ε. Μίνως, 1995.** Εντομολογία. Εκδόσεις University Studio Press, Θεσσαλονίκη. σελ. 324-326.
16. **Προσωπική επικοινωνία με το επιστημονικό προσωπικό, Δρ. Καλαμαράκη Α.,** Γεωπόνο Ερευνήτρια Β, του Εργαστηρίου Βιολογίας, και τις κυρίες **Απλαδά – Σαρλή Π.,** Γεωπόνο Ερευνήτρια Β, και **Μπέμπελου Ε.,** Γεωπόνο, του Εργαστηρίου Υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων, του Τμήματος Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων και Φυτοφαρμακευτικής, του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου. (Μάρτιος, 2007)

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

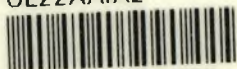
1. **Alder L. Greulich K., Kempe G., Vieth B., 2006.** Residue analysis of 500 high priority pesticides: Better by GC-MS or LC-MS/MS?. *Mass Spectrometry Reviews*, 25 (6): 838-865
2. **Anderson C., Brumhard B., Ditzgens K. and Reiner H., 1999.** Metabolism of fenhexamid (KBR 2738) in plants, animals and the environment. *Pflanzenschutz-Nachrichten-Bayer*, 52 (2): 233-258.
3. **Angioni A., Schirra M., Garau V., Melis M., Tuberoso C. and Cabras P., 2004.** Residues of azoxystrobin, fenhexamid and pyrimethanil in strawberry following field treatments and the effect of domestic washing. *Food Additives and Contaminants*, 21 (11): 1065-1070.
4. **Benton Jones, J. Jr., 1999.** Tomato plant culture. U.S.A.
5. **Cabras P., Angioni A., Garau V., Pirisi F., Cabitza F., Pala M. and Farris G., 2001.** Fenhexamid residues in grapes and wine. *Food Additives and Contaminants*, 18 (7): 625-629
6. **Christensen H., Granby K. and Rabolle M., 2002.** Processing factors and variability of pyrimethanil, fenhexamid and tolyfluanid in strawberries. *Food Additives and Contaminants*, 20 (8): 728-741.

7. **Commission of the European Union**, "Quality control procedures for pesticide residues analysis", Document N° SANCO/10232/2006, 2006, p.16.
8. **Ecker U. and Pfluger W.**, 1999. Ecobiological profile of fungicide fenhexamid. *Pflanzenschutz-Nachrichten-Bayer*, 52 (2): 181-192.
9. **Garau V., Angioni A., Aguilera A., Russo M. and Cabras P.**, 2002. Disappearance of azoxystrobin, pyrimethanil, cyprodinil and fludioxinil on tomatoes in a greenhouse. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1929-1932.
10. **Ishaaya I., Cock A. and Degheele D.**, 1994. Pyriproxyfen, a potent suppressor of egg hatch and adult formation of the greenhouse whitefly (Homoptera: Aleurodidae). *Journal of Economic Entomology*, 87 (5): 1185-1189.
11. **Ishaaya I. and Horowitz A. R.**, 1995. Pyriproxyfen, a novel insect growth regulator for controlling whiteflies: mechanism and resistance management. *Pesticide Science*, 43 (3): 227-232.
12. **Kontou S., Tsiipi D. and Tzia C.**, 2004. Stability of dithiacarbamate pesticide maneb in tomato homogenates during cold storage and thermal processing. *Food Additives and Contaminants*, 21 (11): 1083-1089.
13. **Ludwig S. W., Hoover K. and Berghage R.**, 2003. Evaluation of medium-applied insect growth regulators against fungus gnats and western flower thrips populations on African violets. *HortTechnology*, 13 (3): 515-517.
14. **Rajapakse C. N. K., Meola R. and Readio J.**, 2002. Comparative evaluation of juvenoids for control of cat fleas (Siphonoptera: Pulicidae) in topsoil. *Journal of Medical Entomology*, 39 (6): 889-894.
15. **Sannino A. Bolgoni L. and Bandini M.**, 2004. Application of liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry to the determination of a new generation of pesticides in processed fruits and vegetables. *Journal of Chromatography*, 1036 (2): 161-169.
16. **Sarlis-Aplada P., Liapis K. and Miliadis G.**, 1994. Study of procymidone and propargite residue levels resulting from application to greenhouse tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42 (7): 1575-1577.
17. **Schuster D. J.**, 2002. Action thresholds for applying insect growth regulators to tomato for management of irregular ripening caused by *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleurodidae). *Journal of Economic Entomology*, 95 (2): 372-376.

18. **Teixeira M. J., Aguiar A., Afonso C. M. M., Alves A. and Bastos M. M. S. M., 2003.** High performance liquid chromatographic determination of pesticides in grape skin. Pesticide in air, plant, soil & water system. Proceedings of the *XII Symposium Pesticide Chemistry*, Piacenza, Italy, 4-6 June 2003.
19. **Tomlin C., 2002.** The pesticide manual. Twelfth edition, British Crop Protection Council.
20. **Torres H. M. E., Gonsales E. F. J., Cano C. M. L., Fries M. M. and Vidal M. J. L., 2002.** Residues of methamidophos, malathion and methiocarb in greenhouse crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (5): 1172-1177.
21. **Valverde A., Aguilera A., Rodriguez M., Bulaid M. and Begrani M., 2002.** Pesticide residue levels in peppers grown in a greenhouse after multiple applications of pyridaben and tralomethrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7303-7307.
22. **Yapabandara A. M. G. M. and Curtis C. F., 2004.** Control of vectors and incidence of malaria in an irrigated settlement scheme in Sri Lanka by using the insect growth regulator pyriproxyfen. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 20 (4): 395-400.
23. **Zidan Z. H., Afifi F. A., Sobeiha A. K., Moawad A. G. and El-Malky K., 1994.** Efficiency of juvenile hormone analogues pyriproxyfen, fenocarb and their binary mixtures against whitefly, virus infestation and tomato production. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, 2 (1):179-185.
24. **Zidan Z. H., Selim A. A., Afifi F. A., Abdel-Daim Y. A. and Mohamed K. A., 1996.** Decontamination of insecticide residues from vegetables through laboratory processing. *Annals of Agricultural Science Cairo*, 41 (2): 1051-1064.
25. **Zidan Z. H., Selim A. A., Afifi F. A. and Mohamed K. A., 1996.** Residues of certain organophosphorus and synthetic pyrethroid insecticides on vegetables grown under plastic houses at Kalubia governorate, Egypt. *Annals of Agricultural Science Cairo*, 41 (2): 1041-1049.



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000085699